

**Untersuchung
der Biotransformation
des Pestizids Hexachlorbenzol**

1980

Klaus Peter Schuster



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551913_0073

Untersuchung der Biotransformation
des Pestizids Hexachlorbenzol

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus Peter Schuster
aus Weilheim in OB.

München 1980

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Renner
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H.-D. Stachel

Tag der mündlichen Prüfung: 27. 2. 1980

Dem Gedenken meines Vaters

Heinrich Schuster

†6. August 1977

gewidmet





Vorliegende Arbeit wurde am Pharmakologischen Institut der Ludwig Maximilians Universität München unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. G. Renner durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. Gerhard Renner danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, für seine jederzeit gern gewährte Unterstützung und die vielen wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H.-D. Stachel, Vorstand des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der LMU München, danke ich für die Übernahme des Korreferats, sein stetes Interesse und seine Anregungen.

Herrn Prof. Dr. M. Kiese, Direktor des Pharmakologischen Instituts bin ich für die guten Arbeitsbedingungen am Institut sowie für sein Interesse dankbar.

Herrn Abteilungsleiter Dr. Prigge und Herrn Rössler vom Consortium für elektrochemische Industrie München danke ich für die Aufnahme und Diskussion von Massenspektren und von GC-MS Kopplungen.

Herrn Dr. O. Seligmann und Frl. G. Schild danke ich für die Aufnahme der Massen- und der NMR-Spektren.

Herrn PD Dr. W. Schäfer vom Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried sei für die Diskussion der Massenspektren gedankt.

Herrn MinR. Prof. Dr. Dr. Schulze vom Bayerischen Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen sowie Herrn ORR. Dr. R. Arnold vom Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten danke ich für die Beratung in Fragen des Umweltschutzes und der Landwirtschaft.

Frl. Charlotte Winkler und Frl. Brigitte Reinhardt möchte ich für die wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen und der Synthesen danken.

Dem Curt Bohneward Fond und der Stiftung Emilie Hauber bin ich für die geldliche Unterstützung dieser Forschungsarbeit dankbar.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>Allgemeiner Teil</u>	
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Isolierung und Identifizierung von Metaboliten des Hexachlorbenzol</u>	7
2.1 Phenolische Metaboliten des Hexachlorbenzol	7
2.1.1 Pentachlorphenol	8
2.1.2 2,3,5,6-Tetrachlorphenol	10
2.1.3 2,4,5-Trichlorphenol	10
2.2 Neutrale Metaboliten des Hexachlorbenzol	15
2.2.1 Pentachlorbenzol	16
2.2.2 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol	18
2.2.3 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	19
2.2.4 1,3,5-Trichlorbenzol	21
2.3 Mercaptursäuren als Metaboliten des Hexachlorbenzol.	22
2.3.1 Pentachlorphenylmercaptursäure	22
2.3.2 Tetrachlorphenylmercaptursäure	27
3. <u>Synthese identifizierter sowie erwarteter Metaboliten des Hexachlorbenzol</u>	28
3.1 Pentachloranilin <u>1</u> u. isomere Tetrachloraniline <u>2</u> <u>3</u> <u>4</u>	28
3.2 Pentachlorthiophenol <u>5</u> u. isomere Tetrachlorthiophenole <u>6</u> <u>7</u> <u>8</u>	29

	Seite
3.3 Methylthio-pentachlorbenzol <u>9</u>	
u. isomere Methylthio-tetrachlorbenzole <u>10 11 12</u>	30
3.4 Dekachlordiphenyldisulfid <u>13</u>	
u. isomere Oktachlordiphenyldisulfide <u>14 15 16</u>	31
3.5 N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein <u>17</u>	
u. i. N-Acetyl-S-(tetrachlorphenyl) cysteine <u>18 19 20</u> .	32
3.6 N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl)cysteinmethylester <u>21</u>	
u. N-Acetyl-S-(tetrachlorphenyl)cysteinmethylester <u>22-24</u>	38
3.7 Pentachlorphenyl-methyl-sulfoxid <u>26</u>	39
3.8 Pentachlorphenyl-methyl-sulfon <u>26</u>	40
3.9 Dihydroxytetrachlorbenzole <u>27 28 29</u>	41
4. <u>Unterschiede der Biotransformation des</u>	
<u>Hexachlorbenzol in Abhängigkeit vom Geschlecht</u>	44
5. <u>Diskussion</u>	45
6. <u>Zusammenfassung</u>	54

Experimenteller Teil

1. <u>Meßgeräte, Spektraldaten, Chromatographie</u>	57
2. <u>Simultane Destillation-Extraktion SDE</u>	59

	Seite
3. <u>Beschreibung der Versuche</u>	61
1. 2,3,4,6-Tetrachloranilin	<u>3</u>
2. Pentachlorthiophenol	<u>5</u>
3. 2,3,4,5-Tetrachlorthiophenol	<u>6</u>
4. 2,3,4,6-Tetrachlorthiophenol	<u>7</u>
5. 2,3,5,6-Tetrachlorthiophenol	<u>8</u>
6. Methylthio-pentachlorbenzol	<u>9</u>
7. 1-Methylthio-2,3,4,5-tetrachlorbenzol	<u>10</u>
8. 1-Methylthio-2,3,4,6-tetrachlorbenzol	<u>11</u>
9. 1-Methylthio-2,3,5,6-tetrachlorbenzol	<u>12</u>
10. Dekachlordiphenyldisulfid	<u>13</u>
11. 2,2', 3,3', 4,4', 5,5'-Oktachlordiphenyldisulfid	<u>14</u>
12. 2,2', 3,3', 4,4', 6,6'-Oktachlordiphenyldisulfid	<u>15</u>
13. 2,2', 3,3', 5,5', 6,6'-Oktachlordiphenyldisulfid	<u>16</u>
14. N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl)cystein	<u>17</u>
15. N-Acetyl-S-(2,3,4,5-tetrachlorphenyl)cystein	<u>18</u>
16. N-Acetyl-S-(2,3,4,6-tetrachlorphenyl)cystein	<u>19</u>
17. N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl)cystein	<u>20</u>
18. N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl)cysteinmethylester	<u>21</u>
19. N-Acetyl-S-(2,3,4,5-tetrachlorphenyl)cysteinmethylester	<u>22</u>
20. N-Acetyl-S-(2,3,4,6-tetrachlorphenyl)cysteinmethylester	<u>23</u>
21. N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl)cysteinmethylester	<u>24</u>
22. Pentachlorphenyl-methyl-sulfoxid	<u>25</u>
23. Tetrachlorphenyl-methyl-sulfon	<u>26</u>
24. Tetrachlorbrenzcatechin	<u>27</u>
25. Tetrachlorresorzin	<u>28</u>
26. Tetrachlorhydrochinon	<u>29</u>

	Seite
<u>Literaturverzeichnis</u>	84
<u>Lebenslauf</u>	98

Allgemeiner Teil

1. Einleitung

Hexachlorbenzol (HCB) ist ein Fungizid. Es wurde 1940 von YERSIN als Saatbeizmittel eingeführt und wird hauptsächlich gegen den Zwergsteinbrand des Winterweizens eingesetzt. Bis 1976 war es unter dem Namen Voronit als Naßbeize und unter der Bezeichnung TB 46/13 als Trockenbeize im Handel.

Aufgrund seiner geringen akuten Toxizität bei Warmblütern - die LD_{50} nach oraler Gabe beträgt bei Ratten mehr als 10g/kg - wurde es den bis dahin verwendeten, quecksilberhaltigen Beizmitteln vorgezogen.

Auf schädliche Wirkungen von HCB am Menschen nach wiederholter Aufnahme wurde man erstmals durch Massenvergiftungen in der Türkei aufmerksam. Nach Verwendung von mit HCB gebeiztem Weizen für Nahrungszwecke kam es von 1955 bis 1959 bei etwa 3000 Personen zu Vergiftungen mit der Symptomatik einer Porphyria cutanea tarda (PCT). Nach CAM und NIGOGOSYAN (17) zeigte sich an stationär behandelten Patienten eine interessante Verteilung der Porphyrie in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht. Etwa 80 % aller Erkrankten waren Kinder bis zum 14. Lebensjahr. 76,4 % der Patienten waren männlichen, 23,6 % weiblichen Geschlechts.

1972 wurde ein weiterer schwerer Umweltunfall durch HCB bekannt. In Louisiana/USA mußten 20.000 Rinder getötet werden, weil im Fleisch der Tiere die zulässige Höchstmenge an HCB weit überschritten war.

Als Hauptursache der Kontamination wurde die chemische Industrie erkannt, bei der Hexachlorbenzol als Nebenprodukt der Herstellung von chlorierten Kohlenwasserstoffen, Pentachlorphenol und einiger chlorierter Lösungsmittel anfällt.

Verwendung findet HCB ferner in der Kunststoff- und Reifenindustrie sowie als Flammenschutzmittel. Außerdem entsteht es bei der Verbrennung von PVC-Material (Müllverbrennung) und beim Verheizen von mit Pentachlorphenol imprägniertem Holz.

Aufgrund der im Mai 1974 erlassenen "Verordnung über Höchstmengen von Pestiziden in und auf Lebensmitteln" darf Hexachlorbenzol in der BRD die Höchstmenge von 0,5ppm in Fleisch und Wurst und von 0,3ppm in Milch und Eiern nicht überschreiten.

Da Hexachlorbenzol als einziger Umweltkontaminant 1975 und 1976 diese Höchstmenge in Frischfleisch um mehr als 10 % überschritt, wurde es im Oktober 1976 als Saatbeizmittel und Bodenfungizid bundesweit verboten. In der EG ist das Verbot für 1980 beantragt.

Anlaß für vorliegende Arbeit war der Aufruf der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), Untersuchungen zum Stoffwechsel der Umweltchemikalie Hexachlorbenzol zu leisten.

Die ersten Untersuchungen der Biotransformation des HCB wurden 1959 von PARKE und WILLIAMS (49) an Kaninchen durchgeführt. Da sie keine Stoffwechselprodukte fanden, hielt man Hexachlorbenzol metabolisch für inert.

Erst als HCB als Umweltchemikalie eine Rolle spielte und es zu

schweren Störfällen durch HCB kam, wurden die Untersuchungen erneut aufgenommen und 1973 identifizierten METCALF und Mitarbeiter (48) Pentachlorphenol als ersten HCB-Metaboliten in Algen, Schnecken, Mücken und in einer Fischart (Abb. 1).

1975 wiesen LUI und SWEENEY (46) den Metaboliten Pentachlorphenol auch im Harn von Ratten nach. Sie vermuteten erstmals einen Zusammenhang zwischen der leberschädigenden Wirkung des HCB und seines toxischeren Metaboliten Pentachlorphenol; die LD₅₀ von PCPh nach oraler Gabe beträgt bei der Ratte 180 mg/kg.

Pentachlorphenol, Pentachlorbenzol und ein Tetrachlorbenzol konnten 1975 von MEHENDALE und Mitarbeitern (47) im Rattenharn und von ROZMAN und Mitarbeitern (60) im Harn und in Faeces von Rhesusaffen nachgewiesen werden.

MEHENDALE et al (47) fanden 7 Tage nach oraler Verabreichung einer Einzeldosis von HCB - ¹⁴C bei der Ratte noch 8,64 % der Radioaktivität in der Haut. Die Autoren bringen die nach wiederholter Aufnahme von HCB auftretende Porphyria cutanea tarda mit ihrer extremen Empfindlichkeit gegenüber Sonnenlicht mit der Retention von HCB in der Haut und seiner Biotransformation in Verbindung. ENGST und Mitarbeiter (21) fanden Pentachlorbenzol auch in einer Schimmelpilzkultur.

Quantitative Aussagen über den Stoffwechsel des HCB machten KOSS, KORANSKY und STEINBACH (41) in einer Untersuchung 1976 an weiblichen Ratten.

Biotransformation von Hexachlorbenzol [HCB]

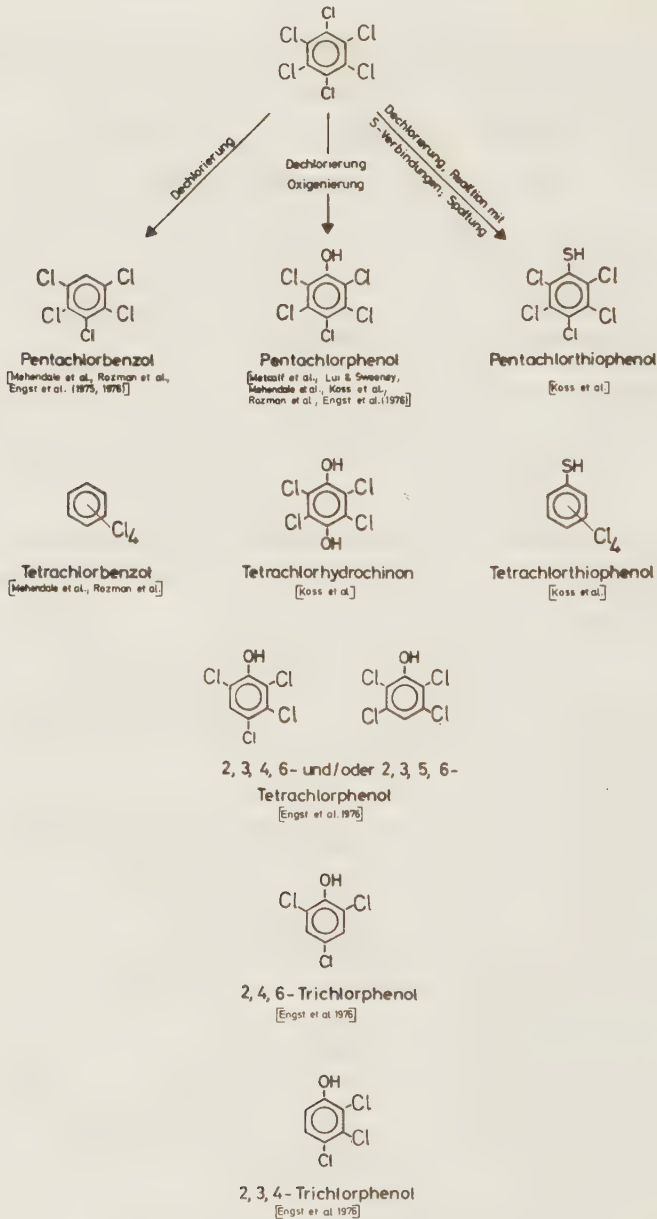


Abb. 1: Biotransformation von Hexachlorbenzol

Stand der Forschung zum 1.10.1975

Sie fanden $98,7 \pm 0,5$ % der mit dem HCB verabreichten Aktivität in Blut, Fettgewebe, Organen und Exkreten wieder und konnten davon 96,7 % dem Substrat und den Metaboliten zuordnen. Von 13,9 % der Radioaktivität wurden 7,2 % dem Hauptmetaboliten Pentachlorphenol, 5,5 % dem Pentachlorthiophenol, 1,1 % dem Tetrachlorhydrochinon und 0,1 % einem Tetrachlorthiophenol zugeordnet.

Weitere Metaboliten wurden 1977 von ENGST und Mitarbeitern (21) aufgrund gaschromatographischer Untersuchungen von Harn, Faeces und Organextrakten der Ratte mitgeteilt. Sie fanden Retentionszeiten, die mit denen von Pentachlorphenol und Pentachlorbenzol sowie von 2,3,4- und 2,4,6-Trichlorphenol, 2,3,4,6- und/oder 2,3,5,6-Tetrachlorbenzol übereinstimmten (Abb. 1).

1978 identifizierten JANSSON und BERGMAN (36) neben den bereits bekannten Metaboliten Pentachlorphenol, Pentachlorbenzol, Pentachlorthiophenol und einem Tetrachlorthiophenol (Abb. 1) noch Methylthio-Pentachlorbenzol, Tetrachlorbenzol-1,4-dithiol, 1,4 -Bis(methylthio)-tetrachlorbenzol, 1,3,4-Tris(methylthio)-trichlorbenzol und ein 4-Methylthio-tetrachlorthiophenol. Weiterhin fanden sie ein Tetrakis(methylthio) dichlorbenzol und ein Hexakis(methylthio)benzol (Abb. 25 Seite 51).

Ziel der vorliegenden Dissertation ist,

1. weitere Metaboliten des Hexachlorbenzol
aus Harn und Faeces von Ratten zu
isolieren und zu identifizieren,
2. identifizierte und zu erwartende HCB-
Metaboliten zu synthetisieren und
3. eventuelle Unterschiede der Biotrans-
formation des Hexachlorbenzol in Ab-
hängigkeit vom Geschlecht aufzuzeigen.

2. Isolierung und Identifizierung von Metaboliten des Hexachlorbenzol.

Aus Harn und Faeces von insgesamt 200 Ratten, denen innerhalb von 10 Monaten 220 g HCB oral verabreicht wurden, konnten Pentachlorphenol, 2,3,5,6-Tetrachlorphenol, 2,4,5-Trichlorphenol, Pentachlorbenzol, 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol, 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol, 1,3,5-Trichlorbenzol, Pentachlorthiophenol und Pentachlorphenylmercaptursäure isoliert und identifiziert werden.

Phenolische Verbindungen wurden von neutralen Metaboliten und von HCB durch Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge aus Ätherextrakten getrennt.

Ein Metabolit (Pentachlorphenylmercaptursäure) wurde aus einem Chloroformextrakt von lyophilisiertem Rattenharn isoliert.

2.1 Phenolische Metaboliten des Hexachlorbenzol (chlorierte Phenole)

Die eingeengten Ätherextrakte der phenolischen HCB-Metaboliten wurden auf TLC-Platten aufgetragen und mit Hexan und mit Benzol : Aceton (9 + 1) entwickelt. Die Zonen mit den R_f-Werten der authentischen Substanzen wurden abgenommen, mit Methanol eluiert und durch UV-Spektrum und die charakteristische bathochrome Verschiebung nach Alkalisieren identifiziert.

Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wässrigem Aethanol oder n-Hexan wurden die chlorierten Phenole durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, IR-, NMR- und Massenspektren identifiziert. Durch Reaktion mit Diazomethan wurden die entsprechenden Methoxyverbindungen (Anisole) erhalten.

2.1.1 Pentachlorphenol

Dieses von METCALF (48), MEHENDALE (47) und KOSS et al (41) bereits als Hauptmetabolit des Hexachlorbenzol beschriebene Stoffwechselprodukt wurde von uns in Harn und Faeces aufgefunden. Durch Aetherextraktion des Harns bzw. durch Wasserdampfdestillation der Faeces und nachfolgende Trennung gelang seine Isolierung.

Die Substanz vom R_f -Wert des authentischen Pentachlorphenols ($R_f = 0,92$ KG; Laufmittel Benzol : Aceton 9 + 1) wurde mit Methanol eluiert. Die Lösung zeigte ein UV-Spektrum sowie eine bathochrome Verschiebung nach Alkalisieren, die mit authentischem Pentachlorphenol übereinstimmten.

Nach Umkristallisieren aus wässrigem Aethanol waren Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, IR-, NMR- und Massenspektrum mit der Referenzsubstanz PCPh identisch.

Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt 191°C

bzw. $190^{\circ} - 191^{\circ}\text{C}$

UV-Spektrum:

(in MeOH)

$$\lambda_{\max} = 302 \text{ nm} \quad \epsilon = 2,85 \cdot 10^3$$

UV-Spektrum:

(in MeOH + 0,2 ml 0,1 N NaOH)

$$\lambda_{\max} = 322,5 \text{ nm} \quad \epsilon = 5,33 \cdot 10^3$$

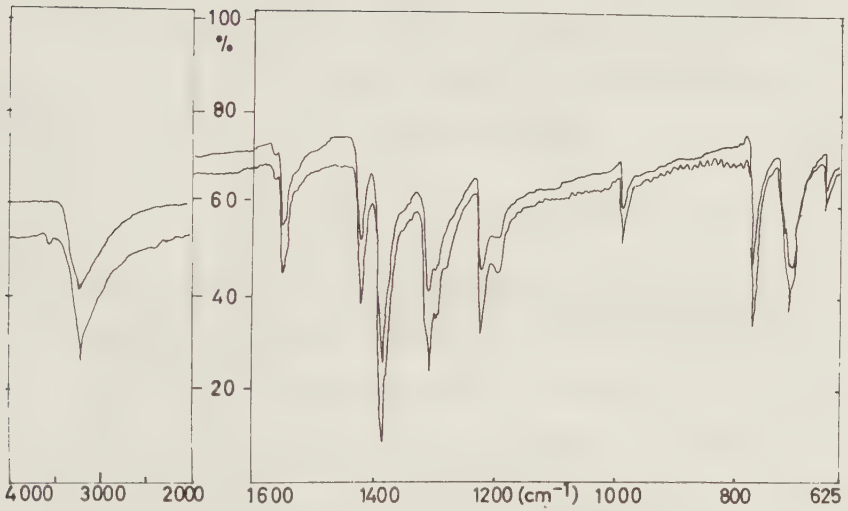


Abbildung 2: IR-Spektrum des isolierten Pentachlorphenol
(Rattenham) und des authentischen PCP.

2.1.2 2,3,5,6-Tetrachlorphenol

Aus Faeces gelang die Isolierung eines Stoffwechselproduktes, das ENGST et al. (21) im Harn von Ratten mittels GC entdeckt hatten. Nach Wasserdampfdestillation wurde das aus dem Aetherextrakt durch verdünnte Natronlauge abgetrennte Phenol auf KG-Platten aufgebracht, mit Benzol : Aceton (9 + 1) entwickelt und isoliert. UV-Spektrum in MeOH und die charakteristische bathochrome Verschiebung brachten erste Hinweise.

Nach Umkristallisieren aus wässrigem Aethanol war die Substanz in Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, IR-, NMR- und Massenspektrum mit authentischem 2,3,5,6-Tetrachlorphenol identisch.

2.1.3 2,4,5-Trichlorphenol

MEHENDALE (47) hatte bereits auf das 2,4,5-Trichlorphenol als HCB-Metabolit hingewiesen. Er fand "Spuren einer Substanz vom R_f -Wert des 2,4,5-Trichlorphenol". Wir konnten aus Rattenurin nach dem Trenngang und 2-maligem Chromatographieren auf PC-Platten KG ebenfalls eine Substanz mit diesem R_f -Wert isolieren (R_f -Wert = 0,54). Das UV-Spektrum und seine bathochrome Verschiebung nach Zugabe von Alkali zur methanolischen Lösung stimmte mit dem authentischen 2,4,5-Trichlorphenol überein. Zur Kompensation der alkalischen Reaktion des Kieselgels wurde das Eluat mit 0,1 N HCl angesäuert.

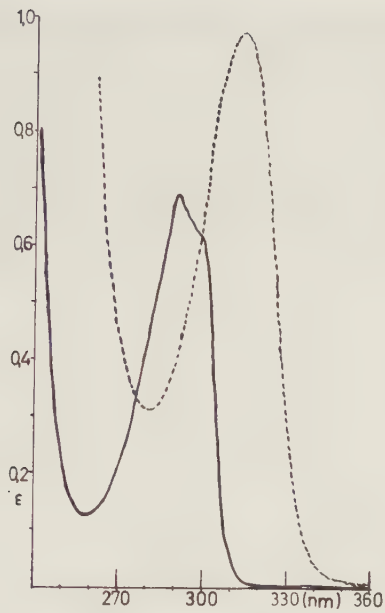


Abb. 4: UV-Spektrum des 2,4,5-Trichlorphenol in MeOH mit bathochromer Verschiebung des Maximums von 291,5 nm auf 312 nm

—— methanolische Lösung

..... methanolische Lösung + 5 % 0,1 N NaOH

Nach Abdestillieren des Methanol wurde der Rückstand aus n-Hexan umkristallisiert

Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt $64,5 - 65,5^{\circ} \text{C}$

IR Spektrum: ausgeprägte OH - Bande bei 3520 cm^{-1}

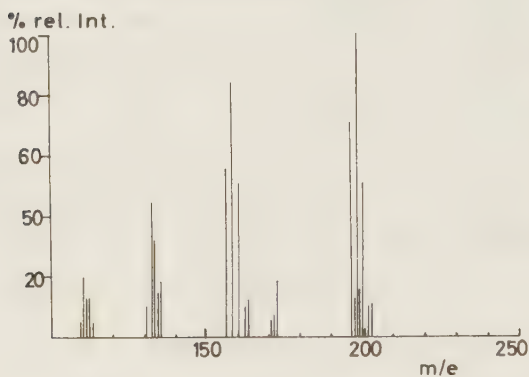


Abb. 5: Massenspektrum von 2,4,5-Trichlorphenol isoliert aus Rattenurin.

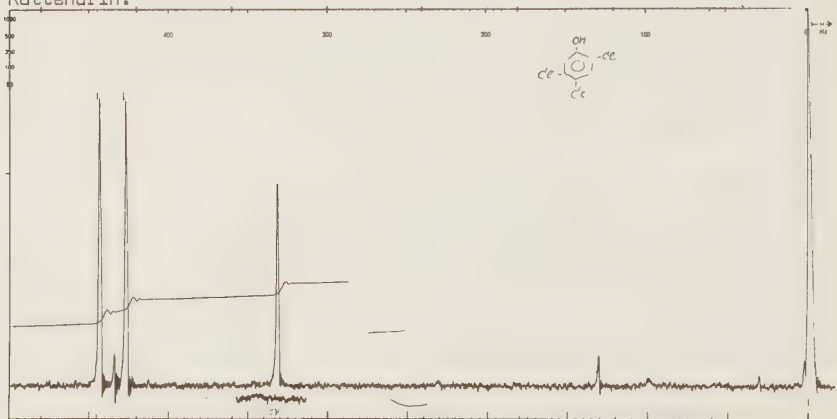


Abb. 6: NMR Spektrum des 2,4,5-Trichlorphenol isoliert aus Rattenurin.

Das isolierte 2,4,5-Trichlorphenol wurde mit Diazomethan versetzt. Der entstandene Methyläther entsprach in allen Kriterien dem authentischen 1-Methoxy-2,4,5-Trichlorbenzol

Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt $72^{\circ} - 74^{\circ} \text{C}$

UV-Spektrum $\text{max } 289 \text{ nm}$ und $\text{max } 298 \text{ nm}$

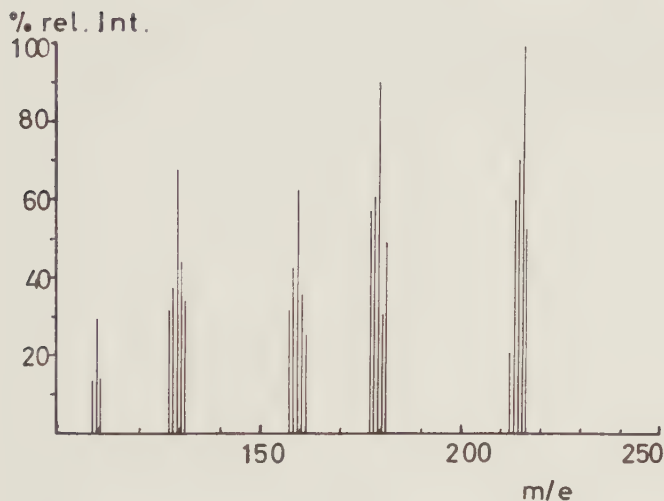


Abb. 7: Massenspektrum des 2,4,5-Trichloranisols (1-Methoxy-2,4,5-Trichlorbenzol) nach Umsetzung von isoliertem 2,4,5-Trichlorphenol mit CH_2N_2

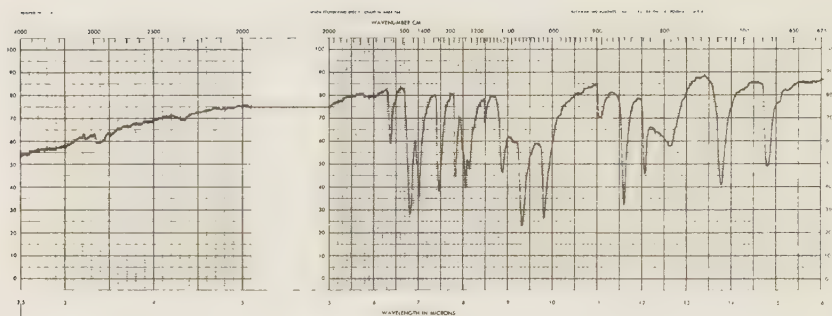


Abb. 8: IR Spektrum des 2,4,5 Trichloranisol (1-Methoxy-2,4,5 Trichlorbenzol) nach Umsetzung von aus Rattenharn isoliertem 2,4,5 Trichlorphenol mit CH_2N_2 .

2.2 Neutrale Metaboliten des Hexachlorbenzol (chlorierte Benzole)

Nach Abtrennen der phenolischen Metaboliten (1.1.1 - 1.1.3) wurde die Aether-bzw. Hexanlösung mit dem Substrat und den neutralen Metaboliten eingeeengt. Nach Trocknung wurde diese auf Kieselgel PLC-Platten mit Benzol : Aceton (9 + 1) chromatographiert. Dabei trennten sich die chlorierten Benzole weitgehend von anderen Harnbestandteilen, jedoch trennten sie sich nicht voneinander, sie wurden deshalb gemeinsam mit Methanol eluiert.

Durch Anwendung der von YANG et al. (77) vorgeschlagenen "reversed phase" Dünnschichtchromatographie war es möglich, mehrere der im Eluat enthaltenen Substanzen zu trennen. Zur Hydrophobierung der Kieselgelschichten wurden die TLC-Platten in eine Lösung von 5 % dünnflüssigem Paraffinöl in Aether getaucht. Nach Verflüchtigung des Aethers wurde das Eluat aufgetragen und mit dem Fließmittel Acetonitril-Methanol-Wasser-Aceton (4:3:2:1) entwickelt.

Die Zonen vom R_f -Wert des authentischen Pentachlorbenzol, 1,2,3,4- und 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol wurden abgenommen, in je einen Vakuumsublimierkolben gegeben und erwärmt. Bei 0,05 Torr sublimierten bei ca. 85°C, 75°C und 30°C Substanzen an den Kühler, die durch Kristallisieren aus Methanol, Äthanol oder Aether vom mitabgeschiedenen Paraffinöl getrennt wurden.

Die Substanzen waren im Schmelzpunkt, R_f -, UV-, IR-, NMR- und Massenspektrum mit Pentachlorbenzol (Harn und Faeces), 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol (Harn) und 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol (Harn) identisch. Aus dem Methanoleluat der wiederholt bei $+ 4^{\circ} \text{C}$ chromatographierten Zone vom R_f -Wert des authentischen 1,3,5-Trichlorbenzols kristallisierte eine Substanz, deren Schmelzpunkt von $61,5^{\circ} \text{C} - 62,5^{\circ} \text{C}$ im Gemisch mit authentischem 1,3,5-Trichlorbenzol keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte. UV- und NMR-Spektren der aus Harn und Faeces isolierten Substanz stimmten mit den Daten des authentischen 1,3,5-Trichlorbenzols überein.

2.2.1 Pentachlorbenzol

MEHENDALE (47), ROZMAN (60) und ENGST (21) hatten Pentachlorbenzol als HCB-Stoffwechselprodukt beschrieben. Durch Anwendung der Dünnschichtchromatographie "mit umgekehrten Phasen" war die Trennung einiger chlorierter Benzole nach mehrmaligem Entwickeln mit dem Fließmittel Acetonitril : Methanol : Wasser : Aceton (4:3:2:1) möglich.

Die Zone vom R_f -Wert des authentischen Pentachlorbenzol wurde abgenommen (R_f -Wert = 0,26) und in einem Sublimierkolben bei 0,05 Torr auf 85°C erwärmt. Farblose Kristalle schieden sich am Kühlfinger ab, die ein mit authentischem Pentachlorbenzol übereinstimmendes UV-, IR-, NMR- und Massenspektrum ergaben.

Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt 141°C bzw.
 $140,5^{\circ}\text{C} - 141,5^{\circ}\text{C}$.

UV-Spektrum:

(in Aether) max 287,5 nm: max 298 nm

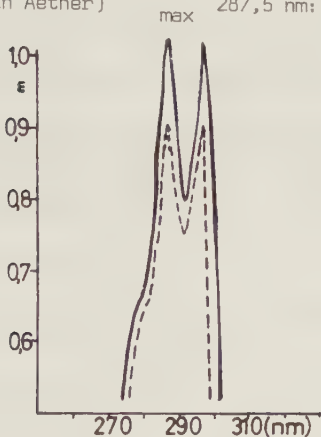


Abb. 9: UV-Spektrum von aus Rattenharn isoliertem PCB
und von authentischem Pentachlorbenzol.

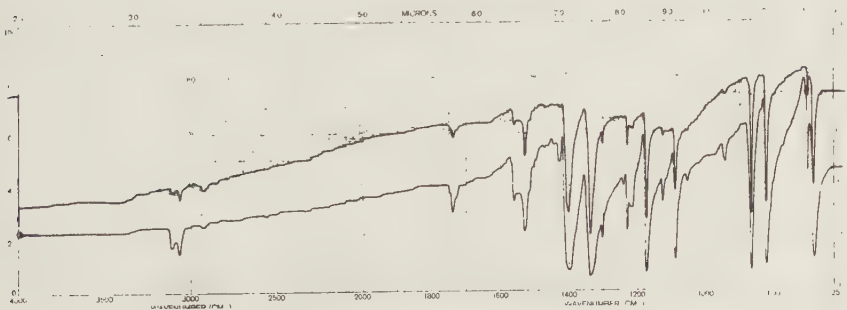


Abb. 10: IR-Spektrum des aus Rattenharn isoliertem PCB
im Vergleich mit authentischem Pentachlorbenzol.

2.2.2 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol

MEHENDALE (47) und ROZMAN (60) hatten nach der Isotopenverdünnungsmethode und GC ein Tetrachlorbenzol als HCB-Metabolit gefunden. Wir trennten mit Hilfe der reversed chromatographie aus Rattenurin eine Zone ab, deren R_f -Wert dem des 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol entsprach. Bei 32° C Badtemperatur und 0,05 Torr sublimierten an den Kühlfinger farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 46,5° C - 47,5° C. (Der Lit.Schmp. des 1,2,3,4-Tetrachlorbenzols beträgt 47,5° C.)

Das UV-Spektrum in absolutem Aethanol war identisch mit dem Spektrum von authentischem 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol.

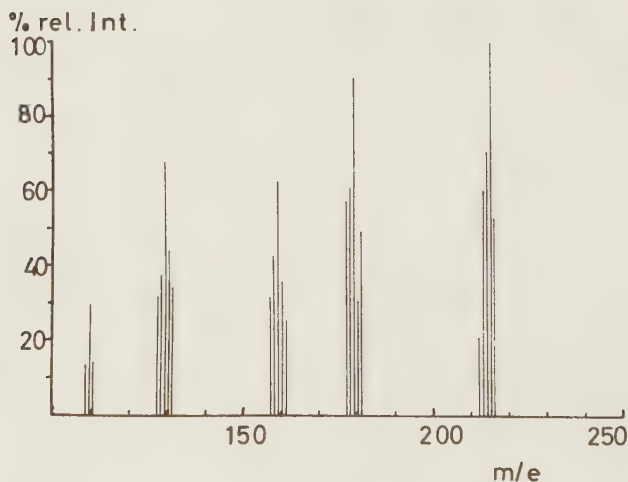


Abb. 11: Massenspektrum des aus Rattenharn isolierten 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol.

2.2.3 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol

Außer dem vicinalen Tetrachlorbenzol fanden wir eine Zone, deren R_f -Wert (0,42) mit dem des 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol übereinstimmte. Die Zone wurde abgenommen und bei 0,05 Torr und 60° C sublimiert; zunächst schied sich Paraffinöl am Kühlfinger ab. Dieser wurde gereinigt. Nach Erhöhen der Badtemperatur auf 82° C sublimierten farblose Kristalle, deren Schmelzpunkt bei 137° C - 140° C lag. Um mitabgeschiedenes Paraffinöl zu entfernen, wurden Kristalle und Öl in Aether gelöst. Bei -20° C schieden sich farblose, derbe Kristalle ab, deren Schmelzpunkt von 141° C mit dem des authentischen 1,2,4,5-Tetrachlorbenzols übereinstimmte. Der gegenüber den Schmelzpunkten 1,2,3,4-TCB (47,5° C) und von 1,2,3,5-TCB (51° C) hohe Schmelzpunkte des 1,2,4,5-TCB und das UV-Spektrum in Aether waren ein Hinweis, daß es sich um das 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol handelte. Der Mischschmelzpunkt mit authentischer Substanz betrug 140° C - 141° C.

IR- und NMR-Spektrum bewiesen eindeutig, daß es sich bei der aus Rattenurin isolierten Substanz um das 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol handelte.

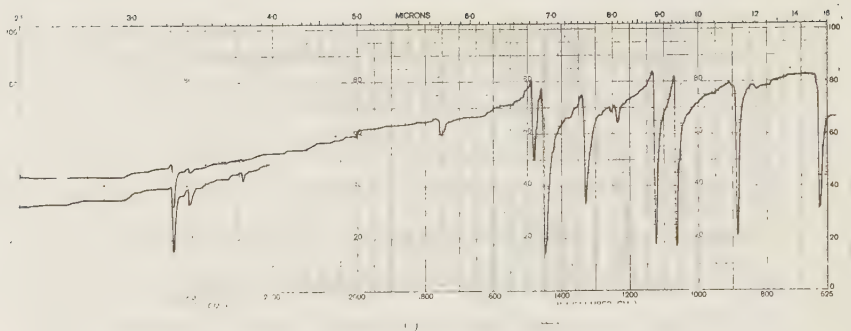


Abb.12: IR-Spektrum des aus Rattenharn isolierten 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol, verglichen mit der authentischen Substanz.



Abb.13: NMR-Spektrum des aus Rattenharn isolierten 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol in CDCl_3 .

2.2.4 1,3,5-Trichlorbenzol

Eine Zone mit dem R_f -Wert 0,73, welche den 1,3,5-Trichlorbenzol zugeordnet war, wurde nach Elution mit MeOH mehrmals in beschriebener Weise reversed-chromatographiert. Die methanolische Lösung zeigte das charakteristische UV-Spektrum des 1,3,5-Trichlorbenzol, welches von den beiden anderen Isomeren deutlich verschieden ist. Nach Umkristallisieren aus wässrigem Methanol ergab sich ein Schmelzpunkt von 63°C - $64,5^{\circ}\text{C}$. (Lit.Schmp. 63°C)

Mischschmelzpunkt 62°C - $63,5^{\circ}\text{C}$.

Das NMR-Spektrum in CCl_4 und das Massenspektrum bewiesen die Identität dieses aus Rattenharn isolierten HCB-Metaboliten.

Massenspektrum: (70 e.V. ST 70°C), $m/e = 179 (\text{M}^+)$

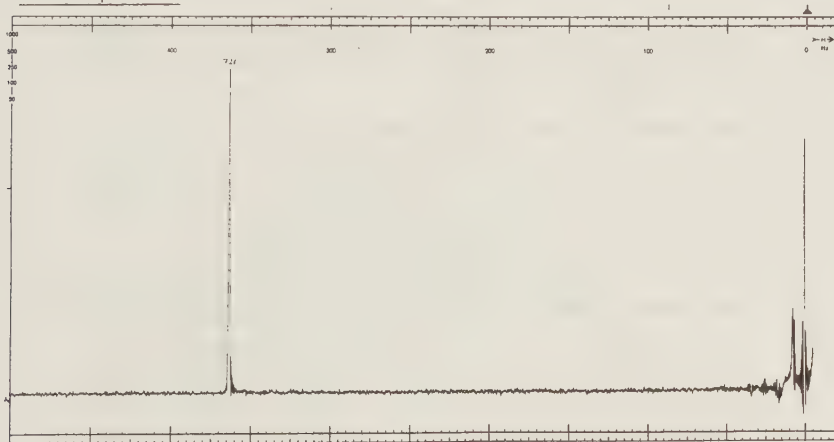


Abb.14: NMR-Spektrum in CCl_4 des aus Rattenharn isolierten 1,3,5-Trichlorbenzol.

2.3 Mercaptursäuren als Metaboliten des Hexachlorbenzol.

30 Ratten wurden wöchentlich 2×100 mg HCB in Erdnußöl über mehrere Wochen hin peroral verabreicht. Insgesamt wurden 10 $\frac{1}{2}$ Harn bei -20°C aufgefangen und gefriergetrocknet.

Der Rückstand wurde mit wenig HCl versetzt, auf pH 1 eingestellt und 5 x mit dem doppelten Volumen Chloroform extrahiert. Eine geringe Menge farbloser Kristalle hat sich aus dem braunen Rückstand abgeschieden. Sie wurden zum Teil in Methanol gelöst, auf HPTLC-Platten aufgetragen und mit Benzol : Eisessig (3 + 1) entwickelt.

2.3.1 Pentachlorphenylmercaptursäure

N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein

Eine Zone stimmte im R_f -Wert mit dem des N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein (PCC) überein.

Nach Versetzen dieser Zone mit aetherischer Diazomethanlösung wurde erneut chromatographiert. Der R_f -Wert war jetzt mit dem des authentischen, mitchromatographierten PCC - Methylesters identisch. (Laufmittel Benzol : Eisessig 3 + 1)

Zur weiteren Identifizierung wurden die restlichen Kristalle in Aethanol gelöst, auf TLC- KG Platten aufgetragen und durch 2-maliges Entwickeln mit Benzol : Aceton (9 + 1) gereinigt. Das dabei am Start verbleibende PCC wurde mit Methanol eluiert und ein Teil auf KG-Platten mit Benzol : Eisessig (2 + 1) chromatographiert.

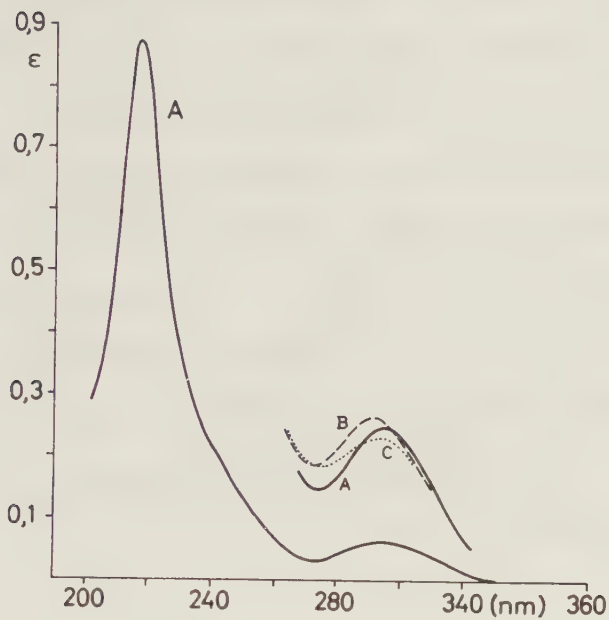


Abb. 15: UV-Spektrum des synthetisierten

N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein (PCC)

A. in Methanol (216,5 nm; $5,6 \times 10^4$).

B. in Methanol + 5 % 0,1 N NaOH

C. in Methanol + 2,5 % 1 N HCl

Der restliche Teil des methanolischen Eluats wurde vom Lösungsmittel befreit, 90 Minuten mit 1 N NaOH hydrolysiert, mit HCl angesäuert und mehrmals mit Äther extrahiert. Die eingeeengten Extrakte wurden auf TLC- und HPTLC-Platten mit Benzol:Aceton (9+1) chromatographiert. Zwei Zonen mit den R_f -Werten des authentischen Pentachlorthiophenols bzw. seines Oxidationsproduktes Dekachlordiphenyldisulfid wurden teils mit Methanol eluiert, teils mit Ellmanns Reagenz (2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoessäure) nach der Methode von GLASER sichtbar gemacht. Die Methanoleluate zeigten nach Alkalisieren die charakteristische Absorption des authentischen Thiophenols und des Disulfids bei 290 nm, die nach Ansäuern völlig verschwindet. Die UV-Spektren des Thiophenols waren mit denen des authentischen Pentachlorthiophenols identisch.

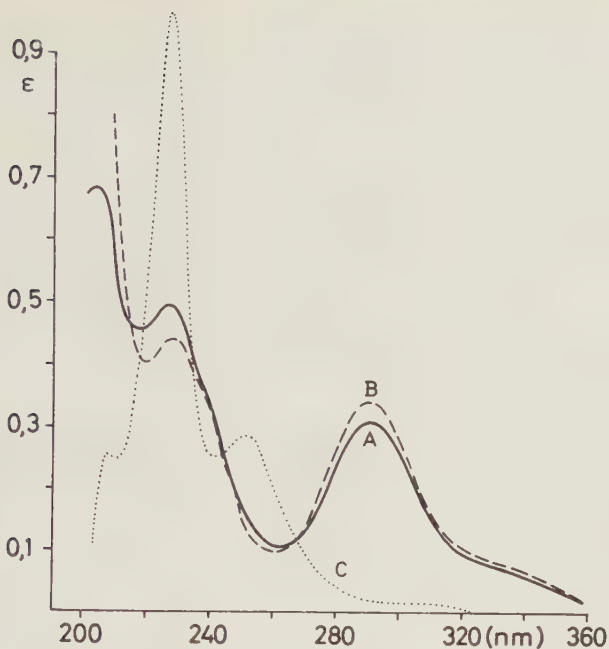


Abb. 17: UV-Spektrum des Pentachlorthiophenols 5

A. in Methanol

B. in Methanol + 5 % 0,1 N NaOH

C. in Methanol + 2,5 % 1 N HCl

Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wässrigem Methanol erhielt ich farblose Kristalle.

Schmp. 228° - 230° C. Misch-Schmp. 227° C - 230° C.

Das IR-Spektrum bestätigte die Identität der aus Rattenharn isolierten Substanz mit dem synthetisierten N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein 17.

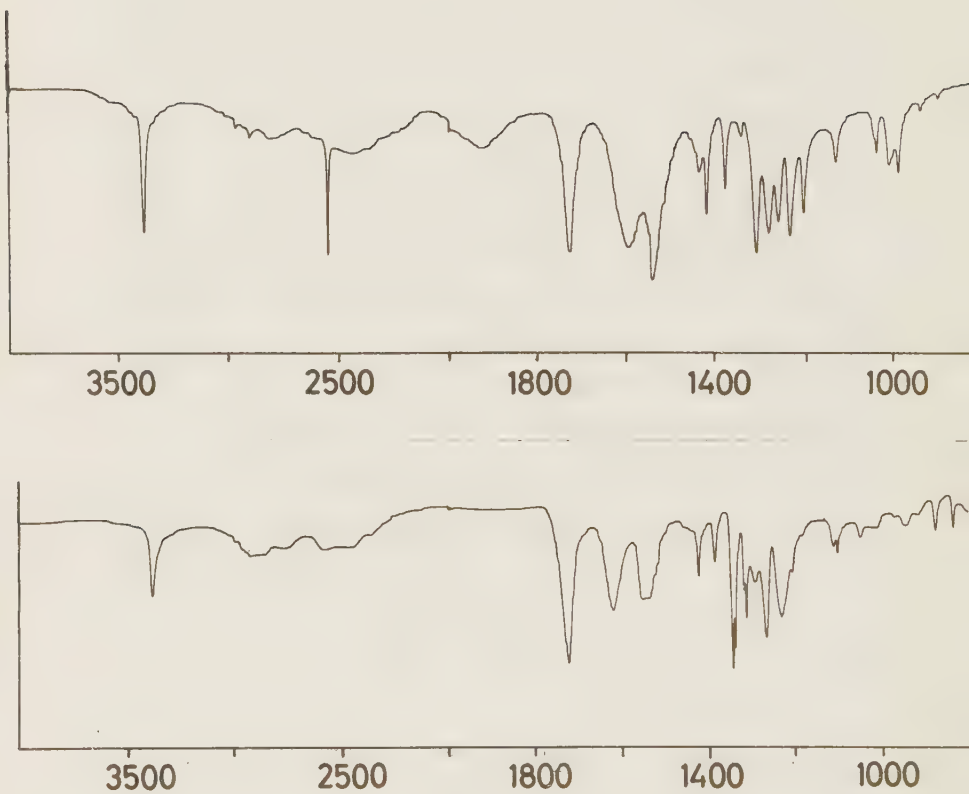


Abb.18: IR-Spektren der Pentachlorphenylmercaptursäure (aus Rattenharn isoliert) und der synthetisierten Pentachlorphenylmercaptursäure (PCC) 17 oder N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl)cystein 17.

2.3.2 Tetrachlorphenylmercaptursäure

Nach alkalischer Hydrolyse des Chloroformextraktrückstandes und Extraktion mit Aether ergaben sich nach Versetzen mit aetherischer Diazomethanolösung Hinweise auf ein vorhandenes 2,3,5,6-Tetrachlorthioanisol.

Auch dünnschichtchromatographische Untersuchungen mit Benzol: Eisessig (3+1) oder (2+1) als Fließmittel zeigten eine Zone, deren R_f -Wert dem der 2,3,5,6-Tetrachlorphenylmercaptursäure entsprach.

Eindeutig konnte ein N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl) cystein noch nicht als HCB-Metabolit identifiziert werden.

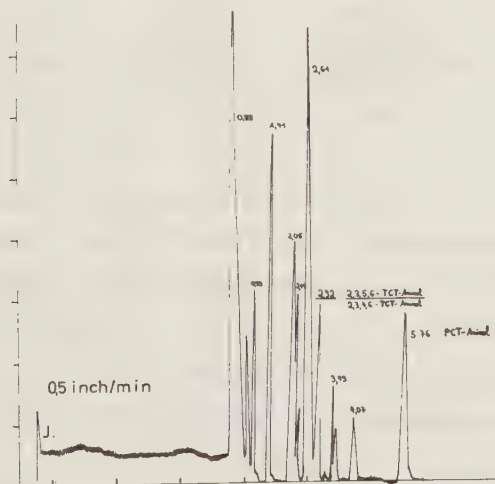


Abb.19: Gas-Chromatogramm des 2,3,5,6-Tetrachlorthiophenol als Spaltprodukt von 2,3,5,6-Tetrachlorphenylmercaptursäure.

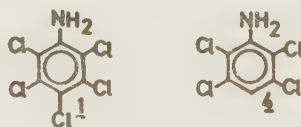
3. Synthese identifizierter sowie erwarteter Metaboliten des Hexachlorbenzol

Die Metaboliten aus der Reihe der chlorierten Benzole und Phenole waren handelsüblich und wurden durch Umkristallisieren gereinigt.

Die anderen Metaboliten wurden synthetisiert.

Verschiedene Herstellungsmethoden wurden verglichen, einige verbessert und die Ausbeuten wenn möglich erhöht.

3.1 Pentachloranilin 1 und isomere Tetrachloraniline 2, 3, 4 (19)

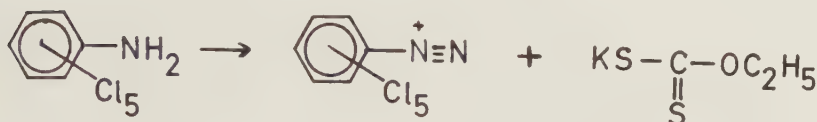


Nach der Angabe von BETTS, JAMES und THORPE (7) gelingt die Nitrierung von 1,2,3,5-Tetrachlorbenzol durch 30 min. Erhitzen unter Rückfluß in 75 %iger Ausbeute. Bei Nacharbeiten der Vorschrift erwies sich jedoch, daß diese Ausbeute nicht erreichbar war. Die von BERCKMANS und HOLLEMAN (10) beschriebene Ausbeute von 65 % wurde jedesmal erreicht.

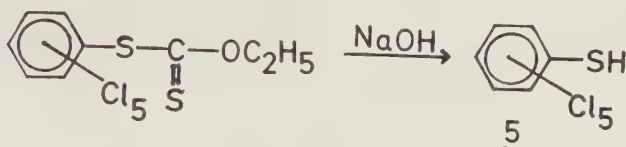
Bei der anschließenden Reduktion des entstandenen 2,3,4,6-Tetrachlornitrobenzol konnte durch Verwendung der 5-fachen statt der 2-fachen molaren Menge granulierten Zinns die Ausbeute an 3 um circa 10 % gesteigert werden.

3.2 Pentachlorthiophenol 5 und isomere Tetrachlorthiophenole 6, 7, 8

TADROS und SAAD (67) beschrieben 1954 die Umsetzung von diazotiertem 1 mit überschüssigem Kaliumäthylxanthogenat in alkalischem Milieu. Nachfolgendes Schema zeigt diese Reaktion:



Nach Hydrolyse erhielten sie 5 in 38 % Ausbeute.



Da sich beim Nacharbeiten relativ viel ungelöste Substanz zeigte, wurde die Kochzeit am Rückfluß von 60 Min. auf 120 Min. verlängert. Dadurch konnte die Ausbeute an 5 auf 51 % erhöht werden. Bei der analogen Herstellung der isomeren Tetrachlorthiophenole 6 und 8 konnten Ausbeuten von 71 % und 77 % erreicht werden. Bei 7 war eine Steigerung der Ausbeute über 41 % trotz mehrmaliger Versuche nicht möglich.

Bei der Suche nach einem geeigneteren Lösungsmittel als Eisessig zeigte sich, daß beim Umkristallisieren aus Cyclohexan trotz Einleiten von H₂S eine Umwandlung in die entsprechenden Disulfide 13 - 16 eintritt. Dies war an den weit höheren Schmelzpunkten, dem Verschwinden der SH-Bande bei 2570 cm⁻¹ und dem Massenspektrum ersichtlich.

Tabelle 1: Molare Extinktionskoeffizienten von 5 - 8
in Methanol nach Zugabe von NaOH bzw. HCl.

	4 ml Methanol +0,2 ml 0,1N NaOH ($\times 10^4$) (nm)		4 ml Methanol +0,1 ml 1 N HCl ($\times 10^4$) (nm)	
PCTP <u>5</u>	1,6	(290)		
	2,1	(227)	4,6 1,4	(227) (252)
2,3,4,6-TCTP <u>7</u>	1,6	(287)		
	2,0	(221)	3,7	(221)
2,3,5,6-TCTP <u>8</u>	1,3	(290)		
	2,0	(223)	4,3	(223)
	1,8	(236)		
2,3,4,5-TCTP <u>6</u>	1,6	(289)		
			3,3 1,2	(221) (249)

3.3 Methylthio-pentachlorbenzol 9 (41) (11)

und isomere Methylthio-tetrachlorbenzole 10, 11, 12 (41)

Die Reaktion mit überschüssiger aetherischer Diazomethanlösung bringt die beste Ausbeute, wenn die CH_2N_2 -Lösung auf das trockene Thiophenol gegossen wird. Dadurch ließen sich Ausbeuten zwischen 53 % und 65 % erreichen.

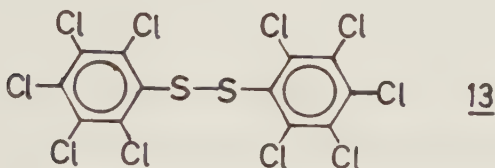
9 ließ sich besser aus Eisessig umkristallisieren als aus dem sonst verwendeten Methanol.

11 und 12 wiesen im GC die gleiche Retentionszeit auf, konnten aber mit Hilfe der HPLC voneinander getrennt werden.

Die Identität wurde vornehmlich durch den Wegfall der SH-Bande bei 2570 cm^{-1} und durch das Massenspektrum erwiesen.

3.4 Dekachlordiphenyldisulfid 13 (11)

und isomere Oktachlordiphenyldisulfide 14, 15, 16



Die Oxidation der entsprechenden Thiophenole 5 - 8 mit Sauerstoff zu den jeweiligen Disulfiden 13 - 16 war in guter Ausbeute möglich. Eine Erhöhung der Badtemperatur über 40°C verbesserte diese nicht.

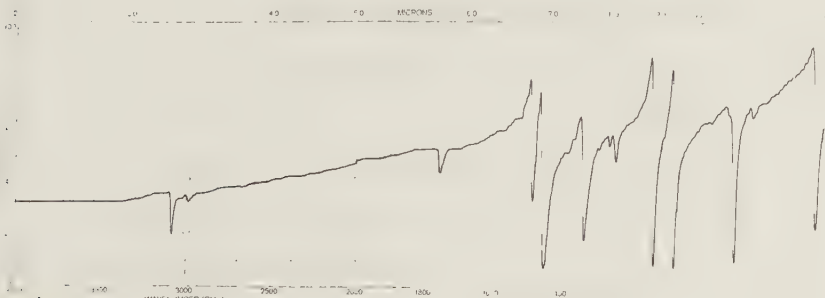


Abb. 20: IR-Spektrum von 13 in KBr

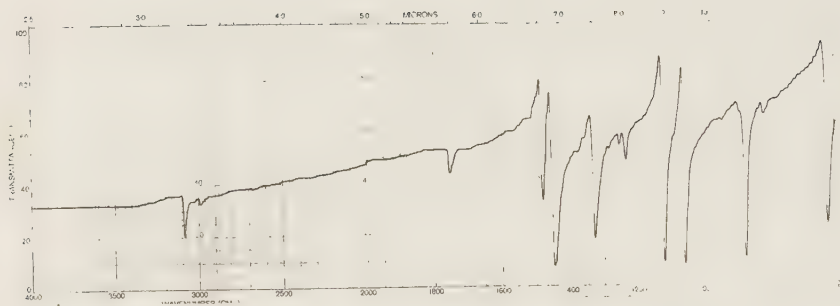
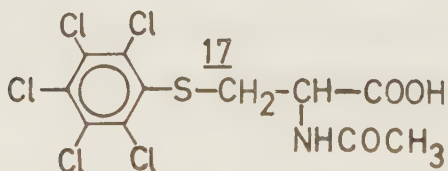


Abb.21: IR-Spektrum von 16 in KBr

3.5 N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl) cystein 17 (9) (12)

und isomere N-Acetyl-S-(tetrachlorophenyl) cysteine 18, 19, 20



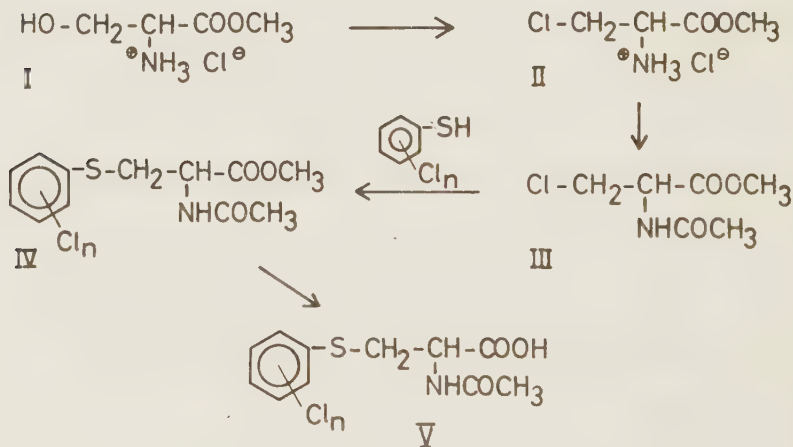
Bereits 1879 beschrieben BAUMANN und PREUSSE (6) die Synthese der 4-Bromphenylmercaptursäure. 1943 wurden Phenyl-l-cystein und l-Phenylmercaptursäure von ZBANSKY und YOUNG (79) hergestellt und 1951 synthetisierten WEST, MATHURA und BLACK (74) im Rahmen ihrer Stoffwechseluntersuchungen an Ratten das 4 - Chlorphenylcystein und die acetylierte Form 4-Chlorphenylmercaptursäure. Letztere erhielten sie auch durch die Verfütterung des 4-Chlorphenylcysteins an Ratten.

Wir erhielten in Übereinstimmung mit BRAY et al. (12) das N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl)cystein 20 durch Verfüttern von 2,3,5,6-Tetrachlornitrobenzol an 2 männliche und 2 weibliche Kaninchen. Neben 20 konnte auch das entsprechende Anilin 4 isoliert werden. Die Ausbeute an 20 betrug bei den männlichen Kaninchen 1,1 % bei den weiblichen 3,4 %. Von 4 wurden bei männlichen Kaninchen 3,4 % und bei weiblichen 5,1 % der gegebenen Dosis isoliert. 17 konnte nach Verfüttern von Pentachlornitrobenzol nur in sehr geringer Menge (1 %) gewonnen werden.

Unsere Versuche, 17 analog der Herstellung nach WEST, MATHURA und BLACK zu synthetisieren, schlugen fehl. Nach Zugabe von Cysteinhydrochlorid zu in Eisessig und conc. HCl diazotiertem 1 und einer katalytischen Menge von Cu_2O entstand bei jedem unserer Versuche Hexachlorbenzol.

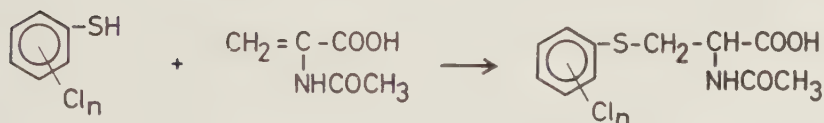
Das Kupferion katalysiert m.E. die mit der Bindung des Cysteinhydrochlorids konkurrierende Reaktion und es wird ein Chlor im Sinne einer Sandmeyer-Reaktion in 1 eingeführt.

Sehr aufwendig ist die Herstellungsmethode nach FOCELLA, HESLIN und TEITEL. Sie läuft wie nachfolgendes Schema zeigt in 5 Schritten ab.



Während die Synthese von 1-Serinmethylester-hydrochlorid nach FISCHER und RASKE (24) und von 3-Chlor-2-aminopropionsäuremethylester-hydrochlorid II mit guter Ausbeute gelang, führte die Herstellung des 3-Chlor-2-acetaminopropionsäuremethylesterhydrochlorids III nach ROTHSTEIN (59) mit anschließender Kondensierung mit 5 und anschließender Hydrolyse von IV zu V trotz mehrerer Versuche nicht zum Ziele; deshalb wurde diese Herstellungsmethode verlassen.

Als brauchbar erwies sich die Methode zur Herstellung von 17 - 20, welche BEHRINGER und FACKLER 1949 veröffentlicht haben (9). Sie kondensierten α -Acetaminoacrylsäure mit para-substituierten Thiophenolen, um 4 - Chlor- und 4 - Bromphenylmercaptursäure zu erhalten. Wir konnten zeigen, daß diese Methode auch für die Kondensation mit 5 - 8 geeignet ist. Den Ablauf der Reaktion erhält nachfolgendes Schema.



Die Ausbeuten lagen zwischen 68 % und 83 %, eine Verlängerung der Kochzeit über 1 Stunde hinaus erhöhte die Ausbeute nicht. Abweichend von den UV-Spektren von 17 sowie von 19 und 20 war das zweite Maximum von 18 bei 265 nm stark in den kürzeren Bereich verschoben, während die Zweitmaxima sonst zwischen 285 nm und 295 nm lagen. Auch wird das Hauptmaximum von 18 bei 204,5 nm nach Zugabe von Alkali stark erhöht, jedoch nicht verschoben. Die Extinktionskoeffizienten in methanolischer Lösung zeigen deutliche Unterschiede, die in alkalisierte Methanollösung wesentlich abgeschwächt sind.

Tabelle 2: Molare Extinktionskoeffizienten von 17 - 20
in Methanol und nach Zugabe von 0,1 N NaOH

	4 ml Methanol		4 ml Methanol + 0,2 ml 0,1 N NaOH	
	($\times 10^4$)	(nm)	($\times 10^4$)	(nm)
<u>17</u>	5,6	212	5,5	216
<u>18</u>	3,9	204,5	5,3	204,5
	1,3	269	-	-
<u>19</u>	5,0	212	5,6	207
<u>20</u>	4,6	212	5,2	205/209

Bei den IR-Spektren war eine Zuordnung der charakteristischen Absorptionsbanden gut möglich.

Tabelle 3: Zuordnung charakteristischer IR-Absorptionsfrequenzen (cm^{-1})

	N-H	C=O	Amid I	Amid II
<u>17</u>	3370	1720	1620	1545
<u>18</u>	3395	1735	1625	1523
<u>19</u>	3370	1715	1610	1550
<u>20</u>	3330	1715	1610	1550

Die Unterschiede in den relativen Intensitäten wird anhand eines Liniendiagramms der IR-Spektren deutlich.

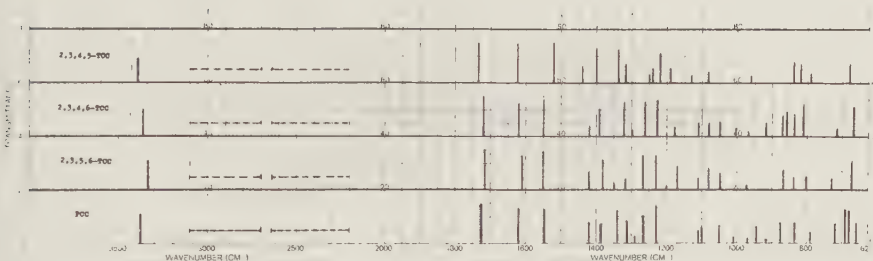


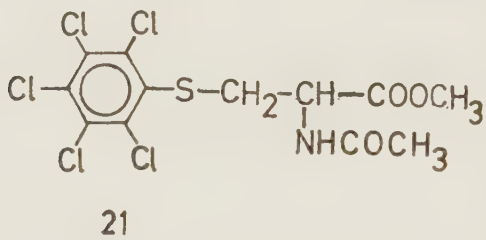
Abb. 22: Liniendiagramm der IR-Spektren von 17 - 20 im Bereich 3500 cm^{-1} - 625 cm^{-1} .

Die Höhe der vertikalen Linien gibt die relativen Intensitäten wieder.

17 - 20 wurden unter den Bedingungen von KOSS und KORANSKY (40, 41) aufgearbeitet. Nach Behandeln mit 1 Vol. 2 N NaOH und 2 Vol. H_2O wurden 17 - 20 bei 70°C unter stetem Rühren 3 Stunden digeriert. Die Lösung wurde auf pH 5 gebracht, gekühlt und mit n-Hexan ausgeschüttelt. Die UV-Spektren wiesen bereits darauf hin, daß die entsprechenden Thiophenole 5 - 8 entstanden waren. Nach Zugabe von Diazomethanlösung in n-Hexan konnte mittels GC eindeutig bewiesen werden: Wie bereits von STEKOL (64) beschrieben, werden die Mercaptursäuren 17 bis 20 durch alkalische Hydrolyse zu 90 % - 100 % zu den entsprechenden Thiophenolen gespalten.

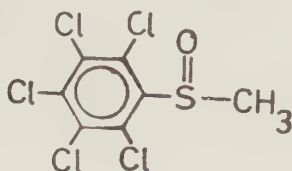
3.6 N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl) cysteinmethylester 21

u. N-Acetyl-S-(tetrachlorophenyl) cysteinmethylester 22, 23, 24



Für die gaschromatographischen Untersuchungen mußten die Methylester der Mercaptursäuren 17 - 20 hergestellt werden. Die besten Ausbeuten an 21 - 24 erbrachte folgende Methode:
17 - 20 wurden jeweils in einem Gemisch von n-Hexan : Methanol 10 : 1 gelöst und dann mit dem 3-fachen Volumen überschüssiger Diazomethan-Lösung in n-Hexan versetzt. Veränderung des Mischungsverhältnisses n-Hexan : Methanol verringerte die erreichten Ausbeuten von 65 % - 90 % auf knapp 40 %.
Mittels HPLC konnten 23 und 24, welche im GC die gleiche Retentionszeit aufweisen, voneinander getrennt werden.

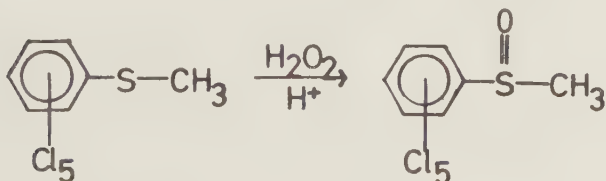
3.7 Pentachlorphenyl-methyl-sulfoxid 25 (73)



25

Da in den Jahren 76 und 77 mehrere Autoren (2, 33, 52, 63) auf Sulfoxide wie auf Sulfone als Metaboliten der Polychlorierten Biphenyle (PCB) und des Pentachlornitrobenzols hingewiesen hatten, wurden 25 und 26 als mögliche Metaboliten des Hexachlorbenzol hergestellt.

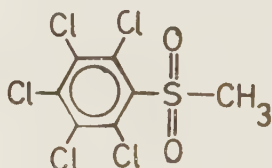
Ausgehend vom Thioanisol 9 wird mit äquivalenter Menge H_2O_2 im Sauren oxidiert, wie es nachfolgendes Schema beschreibt.



Da ein Teil bereits zu 26 oxidiert wird, muß über PSC-Platten getrennt werden.

Interessanterweise wurde beim Umkristallisieren aus Aceton anstatt des Reaktionsproduktes 25 fast reines HCB neben geringen Mengen 25 gefunden. Der Mechanismus dieser Umwandlung ist noch ungeklärt.

3.8 Pentachlor-methyl-sulfon 26 (73)



26

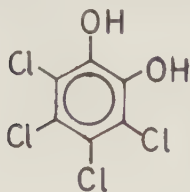
Die Oxidation von 9 mit H_2O_2 im Überschuß führt zu 26. Durch Verlängern der Kochzeit am Rückfluß läßt sich die Ausbeute nicht erhöhen. Etwa 20 % der Ausgangssubstanz werden immer nur zu 25 oxidiert. Beim Umkristallisieren mit Aceton wurde keine Umwandlung zu Hexachlorbenzol beobachtet.

Tabelle 4: R_f -Werte von 25 und 26 auf DC-KG Platten (20 x 20 cm)

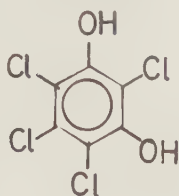
Fließmittel Chloroform

	R_{f1}	R_{f2}	R_{f3}	M R_f
<u>25</u>	0,33	0,39	0,32	0,35
<u>26</u>	0,60	0,67	0,57	0,65

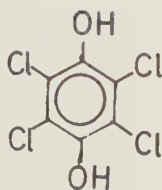
3.9 Dihydroxytetrachlorbenzole 27 28 29 (25) (81)



27



28



29

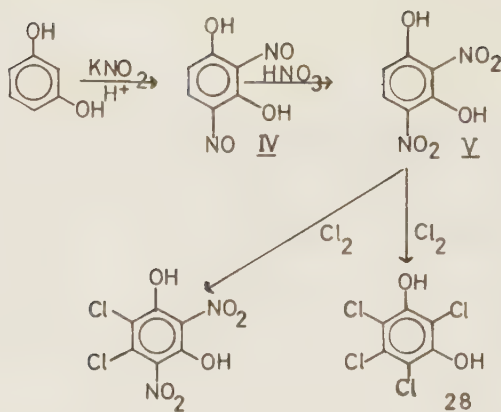
3.9.1 Tetrachlorbrenzkatechin 27 (81)

Durch Reduktion von o-Chloranil mit Hydrazinhydrat wird 27 in guter Ausbeute erhalten. Wird o-Chloranil in Aethanol gelöst, wie es einige Autoren beschreiben, so verbackt das Reaktionsprodukt zu einer amorphen Masse, die Stickstoffentwicklung ist ausgesprochen spärlich und die Ausbeute liegt unter 10 %.

Diäthylenglykol erwies sich als das ausbeutengünstigste Lösungsmittel.

3.9.2 Tetrachlorresorzin 28 (25)

Da die von FRIES und HARTMANN 1920 beschriebene Methode zur Herstellung von 28 sich als zu aufwendig und von geringer Ausbeute erwies, erarbeiteten wir eine Synthesemethode analog der Herstellung von Tetrabromresorzin nach FRITZ (26). Diese läuft nach folgendem Schema ab:



Im ersten Schritt wird aus Resorzin durch schonende Behandlung mit Kaliumnitrit in Eisessig 2,3-Dinitrosoresorzin IV hergestellt. Dann wird mit Salpetersäure unter Eiskühlung zum 2,3-Dinitroresorzin V oxydiert. Bei der anschließenden Halogenierung mit trockenem Cl_2 entstehen neben 28 die stellungsisomeren 5-Chlor-2,4-dinitrochlorbenzol und 6-Chlor-2,4-dinitroresorzin sowie das 5,6-Dichlor-2,4,-dinitroresorzin. 28 wird mittels präparativer Chromatographie getrennt und gereinigt. Aufgrund der höheren Reaktivität des Halogenierungsmittels Cl_2 lag die Ausbeute um 15 % höher als bei der Herstellung von Tetrabromresorzin nach FRITZ.

3.9.3 Tetrachlorhydrochinon 29 (81)

Durch Reduktion von p-Chloranil mit Hydrazinhydrat wird 29 in guter Ausbeute erhalten. Im Gegensatz zur Herstellung von 27 erwies sich Aethanol als das günstigere Lösungsmittel. Neben dem Massenspektrum war die deutliche bathochrome Verschiebung nach Zugabe von Alkali ein Identitätsbeweis.

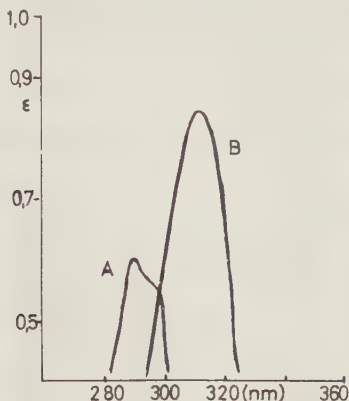


Abb. 23: UV-Spektrum von 29 in Methanol.

A methanolische Lösung B 0,2 ml 0,1N NaOH

4. Unterschiede der Biotransformation des Hexachlorbenzol in Abhängigkeit vom Geschlecht.

Hinweise auf Unterschiede in der Biotransformation in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht waren bereits durch die Massenvergiftung in der Türkei gegeben (17). Auch bei Tieren sind geschlechtsabhängige Wirkungsunterschiede nach wiederholter Gabe von HCB bekannt (27, 28, 33, 45, 60, 62, 65, 76).

Von 30 männlichen und 30 weiblichen Ratten, welche mit HCB behandelt waren, wurden Leber, Nieren, Milz, Herz und Uterus bzw. Hoden gewogen und mit den Organgewichten von Kontrolltieren verglichen. Die deutlichsten Unterschiede zeigte dabei die Leber. Im Mittel hatte das Lebergewicht - bezogen auf das Körpergewicht - bei den behandelten männlichen Tieren um 85 % und bei den weiblichen Tieren um 30 % gegenüber den Kontrollen zugenommen.

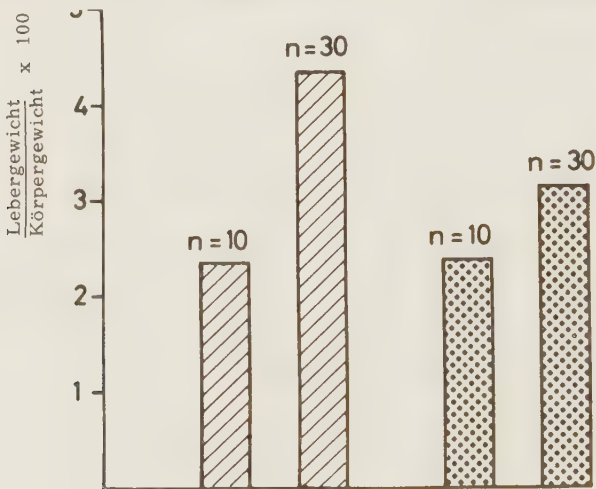


Abb. 24: Gewichtszunahme der Rattenleber nach wiederholter Gabe von HCB. 30 männlichen und 30 weiblichen Ratten wurden 100 mg HCB je kg 9 mal in 4 Wochen per Schlundsonde verabreicht.

5. Diskussion

Noch 1959 wurde Hexachlorbenzol von WILLIAMS in seinem Standardwerk "Detoxication Mechanisms" metabolisch als inert beschrieben. Eine Massenvergiftung während der Jahre 1956 bis 1959, mit deutlichen Unterschieden der Symptomatik in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht, als deren Ursache CAM und NIGOGOSYAN das Saatbeizmittel Hexachlorbenzol erkannten, war mit dieser These WILLIAMS nicht vereinbar und ließ begründeten Zweifel an der Stoffwechselunfähigkeit des Hexachlorbenzol aufkommen.

Die Forschung wurde intensiviert. Bereits 1973 fand METCALF (48) die ersten Stoffwechselprodukte und Jahr für Jahr wurden weitere Metaboliten von anderen Arbeitsgruppen identifiziert, einige wurden allerdings nur anhand der Retentionszeiten am GC bestimmt, oft ohne Definition der Isomeren.

Weitere Ziele der Forschung zu der auch die WHO dringend aufgerufen hatte, waren die Suche nach porphyrrieauflösenden Metaboliten und die Erfassung von Unterschieden der Biotransformation in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.

In vorliegender Arbeit konnten bereits identifizierte Metaboliten bestätigt und einige bislang unbekannte Metaboliten isoliert und identifiziert werden.

Um bei der geringen Metabolisierungsrate des HCB genügende Mengen an Stoffwechselprodukten zu erhalten, hatten die Ratten hohe Dosen von HCB über einen langen Zeitraum erhalten. So war es möglich, anhand Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, UV-, IR-, NMR- und Massenspektren mit authentischer Substanz zu vergleichen und mit Sicherheit auch Isomere zu identifizieren.

Sämtliche nicht handelsüblichen Substanzen wurden synthetisiert. Die Kenntnis der chemischen Eigenschaften der Vergleichssubstanzen ermöglichte die Verbesserung der Isolier- und Reinigungsmethoden; aus diesem Grunde konnten weitere 6, bislang unbekannte Metaboliten isoliert und identifiziert werden.

Die Arbeit wird JENNER und TESTA (37) gerecht, die - wie viele Autoren zuvor - beklagen, daß Metaboliten oft nur aufgrund der Retentionszeiten am GC angegeben werden, und dann oft erst nach Jahren anhand mehrerer Kriterien identifiziert werden oder auch korrigiert werden müssen.

Hauptmetabolit des HCB ist das Pentachlorphenol. METCALF und Mitarbeiter (48) hatten diesen HCB-Metaboliten im Organismus von Algen, Schnecken, Mücken und einer Fischart gefunden.

MEHENDALE (47) sowie LUI und SWEENEY (46) fanden ihn im Harn von Ratten. ROZMAN (60) wies ihn im Harn und in den Faeces von Rhesusaffen nach.

Die Dechlorierung mit nachfolgender Oxigenierung ist der Hauptabbauweg des Hexachlorbenzol. KOSS und KORANSKY (41) geben eine Metabolisierungsrate von 7,2 % bei weiblichen Ratten an. ROZMAN (60) sieht bei Rhesusaffen eine geringere Rate und weist eine erhöhte Ausscheidung bei weiblichen Rhesusaffen nach. (1,2 % : 1,0 %). In einer Arbeit neuesten Datums weist KOSS auf Speziesunterschiede hin. Während die Ratte mit einer Metabolisierungsrate von etwa 7 % relativ viel PCP bildet, sind Maus, Meerschweinchen, Wachtel, Huhn und Regenbogenforelle schlechte PCP-Bildner. Die Wachtel andererseits bildet sehr viel Pentachlorthiophenol. Verschiedene Enzymsysteme mit unterschiedlicher Induzierbarkeit sowie veränderte Membranbindung werden hier als Ursache diskutiert. Das Verhältnis von HCB zu PCP im Blut betrug 8 Wochen nach der 1. HCB Gabe etwa 25 : 1; 16 Wochen nach der 1. Gabe ist die Bildung von PCP so vermehrt, daß das Verhältnis schon 10 : 1 beträgt. Diese Steigerung ist auf den induzierenden Effekt des HCB zurückzuführen. Die AHM - Induktion durch HCB ist weit stärker als durch irgendeinen seiner bislang bekannten Metaboliten.

Da Pentachlorphenol bald bundesweit verboten werden soll und bereits seit Februar 78 als Holzkonservierungsmittel nicht mehr verkauft werden darf, hat man hier einen Forschungsschwerpunkt gesetzt. Es zeigte sich, daß Pentachlorphenol entsprechend dem Hexachlorbenzol im Blut von Kindern deutlich vermehrt vorhanden ist; Muttermilch enthält in der BRD signifikant mehr PCP und HCB als Kuhmilch.

Die interessante Beobachtung von WILLIAMS (75), daß das Stoffwechselprodukt mit der höchsten Metabolisierungsrate auch die höchste akute Toxizität besitzt, wurde von KOSS und Mitarbeitern für die Tetrachlorphenole bestätigt. Von den 3 Isomeren des Tetrachlorphenol hat das 2,3,5,6-Tetrachlorphenol die höchste akute Toxizität und gleichzeitig die höchste Metabolisierungsrate. 2,3,4,5-Tetrachlorphenol wird am geringsten verstoffwechselt und ist am wenigsten akut toxisch.

Diese Gesetzmäßigkeit gilt auch für das von mir isolierte 2,4,5-Trichlorphenol.

Das von KOSS und Mitarbeitern (41) als HCB-Metabolit isolierte Tetrachlorhydrochinon, dessen akute Toxizität etwa der des Pentachlorphenol entspricht, wird unter meinen Bedingungen der simultanen Wasserdampfdestillation-Extraktion bei pH 4,5 nicht übergeführt. Nach Extraktion des Rattenharns bei pH 1 konnte THC gaschromatographisch bestätigt werden.

Sowohl am GC wie bei der Isolierung mittels DC ergaben sich Hinweise, daß ein weiterer Abbau zu Di- und Monochlorphenolen stattfindet.

Die reduktive Dechlorierung ist der zweite Abbaueweg des HCB. Das Pentachlorbenzol war von mehreren Autoren bereits identifiziert MEHENDALE (41), ENGST (21), ROZMAN (60).

Laut einer persönlichen Mitteilung von KOSS entstehen bei der Verstoffwechslung des Pentachlorbenzol folgende Metaboliten : 2,3,4,5 Tetrachlorthiophenol, Tetrachlorhydrochinon und ein Pentachlor-ortho-hydroxythiophenol. Die beiden Thiophenole können aufgrund der Aufbereitungsmethode auch Mercaptursäuren sein. Die Bildung der ortho-Hydroxygruppe ist ein interessantes Beispiel für eine Reaktion des Epoxids als Zwischenstufe.

Die weitere Dechlorierung führt zum 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol und zum vizinalen 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol. Wie auch das 1,3,5-Trichlorbenzol zeigt, scheinen die symmetrischen Metaboliten bevorzugt gebildet zu werden. Eine Analogie im Hinblick auf Metabolisierungsrate und akute Toxizität wie bei den Tetrachlorphenolen ist meines Wissens noch nicht untersucht.

1,2,4,5-Tetrachlorbenzol wie auch 2,4,5-Trichlorphenol als HCB-Metaboliten fanden Beachtung, da sie Ausgangssubstanzen des 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin darstellen, welches durch die Umwelt-Katastrophe von Seveso traurige Berühmtheit erlangte.

Von der Synthese des 2,3,7,8-TCDD wurde abgesehen, nachdem die enorme Toxizität dieser Substanz bekannt geworden war. Eine Entstehung im Organismus ist aus energetischen Gründen äußerst unwahrscheinlich.

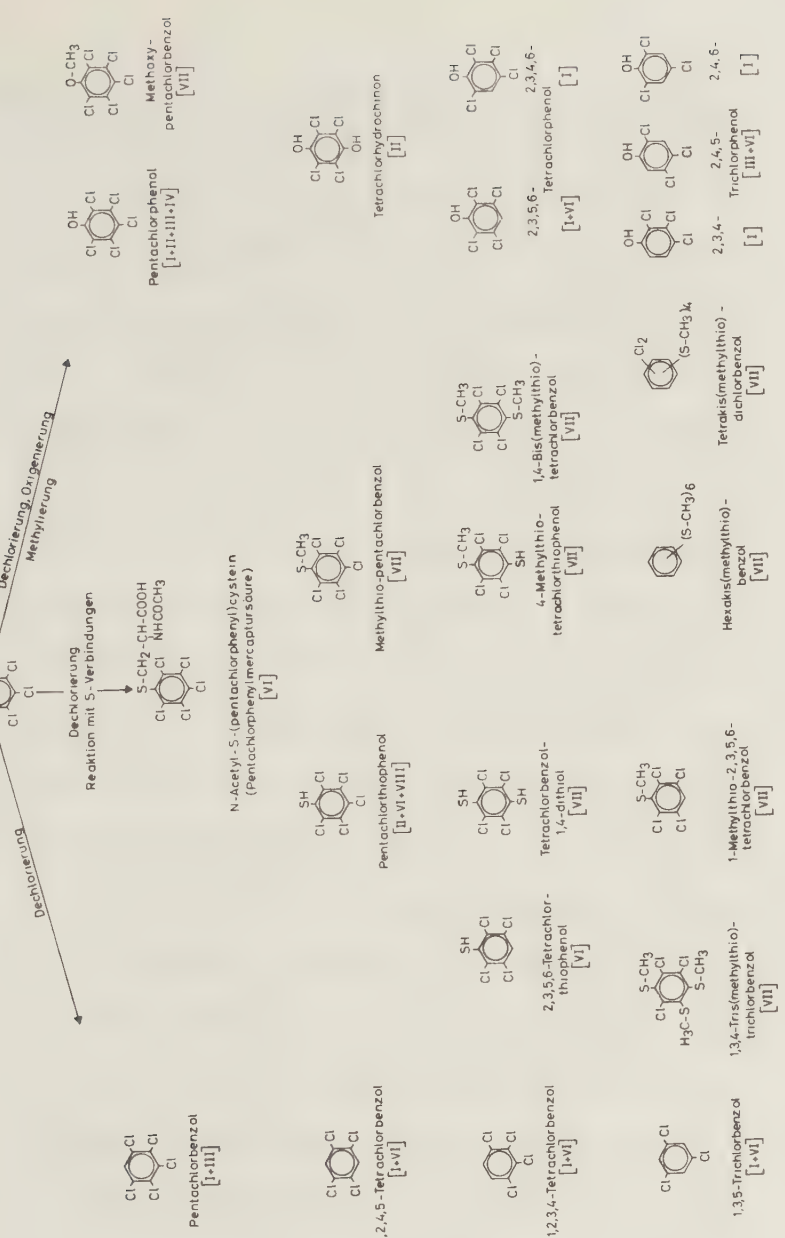
Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die Klärung des Problems Mercaptursäurebildung und Thiophenole als HCB-Metaboliten. KOSS und KORANSKY (40, 41) hatten 1976 Pentachlorthiophenol und ein isomeres Tetrachlorthiophenol als HCB-Metaboliten beschrieben.

Auffällig war die Aufbereitung des Urins im Alkalischen. Die alkalische Hydrolyse ist nach STEKOL (64) eine anerkannte Methode zur Bestimmung von Mercaptursäuren. Andererseits ist seit den Arbeiten von BAUMANN und PREUSSE (6) bekannt, daß Chlorbenzole Mercaptursäuren bilden. So wird Monochlorbenzol zu fast 50 % in Mercaptursäure umgewandelt, ortho- und meta Dichlorbenzole in geringerem Maße.

1,2,4- und 1,2,3-Trichlorbenzole bilden weniger als 1 % Mercaptursäure. 1,3,5-Trichlorbenzol bildet keine Mercaptursäure. Offenbar ist eine p - Position am Kern notwendig, denn nur dort wird das H am Kern durch den Acetylcysteyl-Rest ersetzt.

WILLIAMS zeigt in seiner Arbeit aus dem Jahre 55, daß weder Tetrachlorbenzole, noch PCB oder HCB Mercaptursäure bilden.

Biotransformation von Hexachlorbenzol [HCB]



Literatur I Engst et al. (1976) II Koss et al. (1976) IV Razman et al. (1976)
V Lul, Sweeny (1976) VI Renner, Schuster (1977, 1978) VII Jannson, Bergmann (1976) VIII Bayerl et al. (1979)

Die Arbeiten von KOSS und KORANSKY (40;41), die das Pentachlorthiophenol mit 5,5 % und das Tetrachlorthiophenol mit 0,1 % der gegebenen Menge bilanzierten, waren Anlaß zu weiterer Forschung; zumal diese Autoren in den Thiophenolen die pathogenetischen Faktoren der Porphyrrie vermuten.

Unterschiede in der Störung des Porphyrinstoffwechsels durch HCB in Abhängigkeit vom Geschlecht, wie sie von CAM und NIGOGOSYAN (17) am Menschen beobachtet wurden - dabei zeigten Männer eine größere Empfindlichkeit als Frauen - sind auch in Tierversuchen bei Ratten bekannt geworden. Hier zeigten jedoch die weiblichen Ratten eine höhere Empfindlichkeit.

Diese Beobachtung, daß weibliche Ratten empfindlicher reagieren als männliche, wird in Zusammenhang gebracht mit einer Wechselwirkung zwischen HCB bzw. seiner Biotransformation und Geschlechtshormonen. Gestützt wird diese Annahme durch Versuchsergebnisse, wonach sich die Symptome der durch HCB induzierten Porphyrrie bei der männlichen Ratte nach Kastration oder gleichzeitig mit HCB verabreichtem Östrogen verstärkten, sich dagegen bei weiblichen Tieren nach Entfernen der Ovarien verringerten (42; 45; 63). Die Verabreichung von Hormonen wie Östrogenen, Androgenen oder Gestagenen allein bewirkte keine Auslösung der Porphyrrie (43; 45). Neuere Untersuchungen von WICK und BAYERL (77), die die Konzentration der Metaboliten in den einzelnen Organen untersuchten, ergaben, daß bei Pentachlorthiophenol die Konzentration in der Leber weiblicher Ratten höher ist als in der männlicher Ratten und daß auch die

Konzentration von Pentachlorthiophenol in der Leber weiblicher Tiere langsamer abnimmt als in der Leber männlicher Tiere.

Da allein die Konzentration des Pentachlorthiophenol in den Lebern weiblicher Tiere höher ist als bei männlichen Tieren, könnte hier der Grund für die höhere Porphyrie - Empfindlichkeit weiblicher Ratten zu finden sein. Dies würde die Vermutung von KOSS und KORANSKY (40, 41), daß schwefelhaltige Metaboliten pathogenetische Faktoren für die Entstehung der durch HCB induzierten Porphyrie sein könnten, bestärken.

6. Zusammenfassung

Hexachlorbenzol (HCB) wurde 1940 als Saatbeizmittel und Bodenfungizid eingeführt und gehört heute trotz seines Anwendungsbereiches im Jahre 1976 zu den ubiquitär vorkommenden Umweltchemikalien. Sein Stoffwechsel wurde Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, nachdem es in der Türkei zwischen 1955 und 1959 durch wiederholte Aufnahme von mit HCB gebeiztem Weizen zu Massenvergiftungen gekommen war. Die dabei auftretende Porphyria cutanea tarda zeigte eine interessante Verteilung nach Alter und Geschlecht.

In dieser Arbeit wurde der Stoffwechsel von Hexachlorbenzol an Ratten untersucht. Aus Harn und Faeces von 200 Ratten, denen innerhalb von 10 Monaten 220 g HCB oral verabreicht wurden, konnten die HCB-Metaboliten Pentachlorphenol, 2,3,5,6-Tetrachlorphenol, 2,4,5-Trichlorphenol sowie Pentachlorbenzol, 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol, 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol und 1,3,5-Trichlorbenzol isoliert und identifiziert werden. Für die Isolierung der Stoffwechselprodukte erwies sich die kombinierte Wasserdampfdestillations-Extraktions-Apparatur nach LIKENS und NICKERSON als besonders geeignet. Aus dem Extrakt wurden die phenolischen Metaboliten durch Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge getrennt und nach Ansäuern der alkalischen Lösung in Aether oder n-Hexan reextrahiert.

Gaschromatographische Analysen erbrachten erste Hinweise auf vorhandene Metaboliten. Zum GC-Nachweis der chlorierten Phenole wurden diese in Hexanextrakten durch Reaktion mit Diazomethan in die entsprechenden Anisole übergeführt. Isoliert wurden die phenolischen

Metaboliten nach dünnschichtchromatographischer Trennung auf KG-Platten mit n-Hexan und Benzol:Aceton als Fließmittel, die neutralen Metaboliten unter Verwendung der "reversed phase" Dünnschichtchromatographie mit dem polaren Fließmittel Acetonitril:Methanol:Wasser:Aceton.

Schmelzpunkte, UV-, IR-, NMR- und Massenspektren stimmten mit den entsprechenden Daten der authentischen Substanzen überein.

Der HCB-Metabolit N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein wurde aus Rattenharn isoliert. Dabei wurde der Harn von 30 Ratten, die 24 g HCB oral erhielten, 4 Wochen lang gesammelt, dann gefriergetrocknet und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Nach DC-Entwicklung wurde eine Zone vom R_f -Wert der synthetisch hergestellten Pentachlorphenylmercaptursäure mit Methanol eluiert. Die Zugabe von Diazomethan zu einem Teil des Eluats führte zur Isolierung des Pentachlorphenylmercaptursäureesters. Im restlichen Eluat wurde die Mercaptursäure durch Erhitzen mit Natronlauge hydrolysiert und das Spaltprodukt Pentachlorthiophenol nachgewiesen. In geringen Mengen war Pentachlorthiophenol als HCB-Metabolit in freier Form vorhanden. Größere Mengen waren nur als Spaltprodukt nach alkalischer Aufarbeitung von Harn und Faeces nachweisbar, wie sie einigen Autoren zur Isolierung und Identifizierung von HCB-Metaboliten durchführten.

Ein nach der alkalischen Hydrolyse im GC auftretender Peak mit der Retentionszeit des 2,3,5,6-Tetrachlorthiophenol könnte auf die entsprechende Mercaptursäure als weiteren HCB-Metaboliten hinweisen.

Die Herstellung der isomeren Tetrachlorthiophenole, der entsprechenden Disulfide, der isomeren Tetrachlorphenylmercaptursäuren und der Pentachlorphenylmercaptursäure erleichterten uns das Auffinden von Methoden zur Isolierung und Identifizierung der Metaboliten. Einige Synthesen wurden modifiziert und deren Ausbeuten erhöht.

Ein geschlechtsabhängiger Unterschied in der Wirkung von Hexachlorbenzol zeigte sich an den Organgewichten der Ratten. Am deutlichsten war er bei der Leber. Das relative Lebergewicht hatte bei männlichen behandelten Ratten um 85 %, bei weiblichen Ratten um 30 % gegenüber den Kontrolltieren zugenommen.

Experimenteller Teil

1. Meßgeräte, Spektraldaten, Chromatographie und Reinigung

Meßgeräte

UV-Spektralphotometer Modell DMR 10 (Fa. Zeiss)

IR-Spektrophotometer IR-Gitterspektrophotometer 257 (Fa. Perkin-Elmer)

Massenspektrometer AEI MS 30 und MS/EDV Komb. CH 5/SS 100 (Fa. Varian)

Kernresonanzspektrometer A 60-A (Fa. Varian) und Spectrospin 10 (Brucker)

Schmelzpunktapparatur Mikroskopheiztisch 350 (Fa. Leitz)

Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Labor

Ilse Beetz in 8640 Kronach durchgeführt.

Spektraldaten

Soweit nichts anderes angegeben, beziehen sich die Spektraldaten bei UV-Spektren auf Lösungen in Methanol, bei den IR-Spektren auf KBr-Presslinge und bei den NMR-Spektren auf CDCl_3 -Lösungen.

Sämtliche NMR-Spektren sind bei 60 MHz aufgenommen.

Die Massenspektren sind mit 70 eV und 100 μA aufgenommen, angegeben wurden nur Zerfallsprodukte, deren relative Intensität über 25 % liegt.

Chromatographie

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen wurden auf DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F_{254} (Merck) und HPTLC-Fertigplatten Kieselgel 60 F_{254} (Merck) durchgeführt; für präparative Trennungen wurden PSC-Fertigplatten KG 60 F_{254} (Merck) verwendet.

Gaschromatographische Untersuchungen wurden an einem Hewlett-Packard Research Chromatograph Modell 5750 - A mit Elektroneneinfang -Detektor (^{63}Ni) durchgeführt.

Säule: 9 ft. 3 % QF 1 100 - 120 mesh Gaschrom Q.

Träger- und Reinigungsgas: Argon/Methan 90/10

Fließgeschwindigkeit 25 bzw. 60 ml/Minute.

Temperatur: Säule 150°C , Detektor 300°C .

Zur HPLC wurde ein Liquid Chromatograph Waters Modell 244 verwendet.

Säule: 30 cm x 4 mm I.D. Bondapack C_{18} /Corasil.

Fließmittel: Methanol : Wasser (95 : 5)

Temperatur: 25°C , Fließgeschwindigkeit 1,5 ml/Minute.

Reinigung der Substanzen

Handelsübliche Substanzen wurden wenn möglich in p.a. Qualität von den Firmen Merck, Merck-Schuchardt, EGA-Chemie und Fluka bezogen, Hexachlorbenzol p.a. wurde vor dem Verfüttern zu GC-Reinheit umkristallisiert. Nach 6-maligem Umkristallisieren aus Chloroform waren Tetra- und Trichlorbenzolverunreinigungen nicht mehr nachweisbar. Spuren von Pentachlorbenzol im Bereich von 10 ppm konnten mit unseren Methoden nicht entfernt werden.

Pentachloranilin 1 und 2,3,4,5- 2 sowie 2,3,5,6-Tetrachloranilin 4 waren nur in technischer Qualität erhältlich und wurden durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton und Aktivkohle und danach aus wässrigem Aethanol gereinigt.

Schmp.: 1 232°C Lit. 232°C ; 2 $117^{\circ} - 118^{\circ}\text{C}$ Lit.: $118,5^{\circ}\text{C}$,
4 $107^{\circ} - 108^{\circ}\text{C}$ Lit.: 108°C

2. Simultane Destillation-Extraktion (SDE)

Zur simultanen Extraktion der wasserdampfgefährlichen Anteile durch organisches Lösungsmittel wurde eine von der Firma Otto Fritz GmbH (Normag) hergestellte SDE-Apparatur verwendet. Sie entspricht bei kleinen Abänderungen der von SCHULTZ modifizierten Apparatur nach LIKENS und NICKERSON.

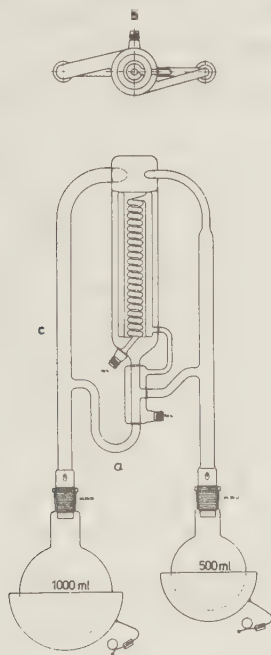


Abb. 26: Simultane Destillations- und Extraktions-Apparatur.

Vor Beginn der Destillation aus beiden Kolben wird das U-Rohr über das Einfüllrohr b mit Wasser oder, wenn das spez. Gewicht des organischen Lösungsmittels größer als 1 ist, mit dem Lösungsmittel gefüllt. Der Kolben, der mit dem Destillierrohr c verbunden ist, enthält die Flüssigkeit mit dem größeren spezifischen Gewicht.

Die Simultane Wasserdampfdestillation-Extraktion SDE ist für unsere Zwecke besonders geeignet, da die meisten HCB-Metaboliten hochsiedende Substanzen von sehr geringer Wasserlöslichkeit und einem im Verhältnis zu Wasser großen Molekulargewicht sind. Infolge der geringen Wasserlöslichkeit beeinflussen sich die Dampfdrucke der Substanzen und des Wassers nur wenig. Der Siedepunkt des Systems wird erreicht, wenn die Summe der Einzeldampfdrucke dem Atmosphärendruck gleich geworden ist; da dieser tiefer liegt als der Siedepunkt der leichter flüchtigen Komponente Wasser, können die Substanzen unter 100° C destilliert werden.

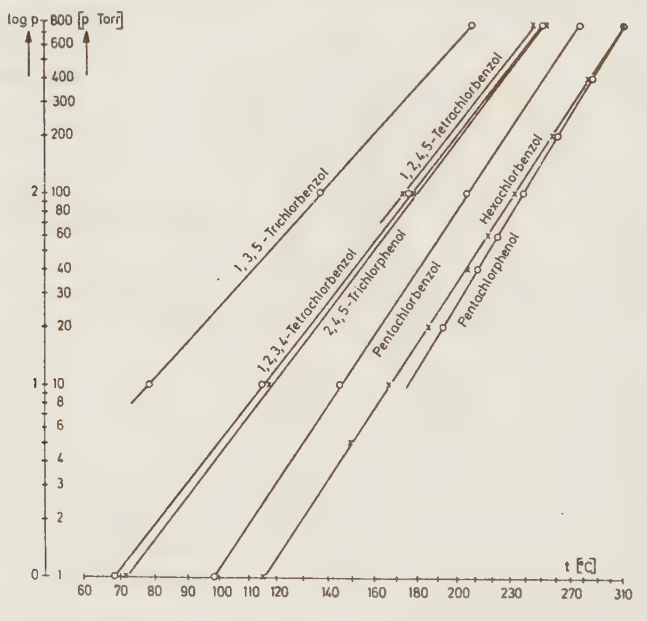


Abb.: 27: Dampfdruckkurven von 1,3,5-Trichlorbenzol, 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol, 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol, PCB, HCB, 2,4,5-Trichlorphenol und Pentachlorphenol.

Sämtliche in Abb. 27 aufgeführten Substanzen wurden in Konzentrationen von 2 ppm aus 1 l wässriger Phase bei pH 1 innerhalb 2 Stunden vollständig in 100 ml n-Hexan extrahiert.

3. Beschreibung der Versuche

1. 2,3,4,6-Tetrachloranilin 3 (13)

15 g 1,2,3,5-Tetrachlorbenzol (0,069 Mol) werden mit 45 ml conc. HNO_3 ($S = 1,52$) versetzt und unter Rückfluß 30 Min. erhitzt. Beim Abkühlen scheiden sich ölige Tröpfchen ab. Dann wird die Mischung in ca. 1 l Eiswasser gegossen. Das Rohprodukt fällt als gelblich-weißer Niederschlag aus.

Ausbeute an 2,3,4,6-Tetrachlornitrobenzol: 12,4 g

Farblose Kristalle, Schmp. $40^\circ - 41^\circ \text{C}$ Lit.: 41°C

8,6 g (0,033 Mol) 2,3,4,6-Tetrachlornitrobenzol werden in Aethanol gelöst und mit 54 ml conc. HCl und 18 g granuliertem Zinn versetzt. Nach 2 1/2 Stunden Kochen unter Rückfluß wird in 2 l Eiswasser gegossen und der farblose Niederschlag abfiltriert.

Ausbeute 5,9 g (77 %)

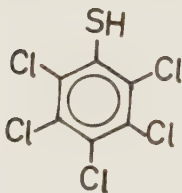
3: Farblose Kristalle, Schmp. $77^\circ - 78^\circ \text{C}$ (Aethanol) Lit.: 78°C



(230,9)

MS (m/e) 229 (M^+), 202, 166, 157, 131

2. Pentachlorthiophenol 5 (67) (11)



13 g (0,049 Mol) 1 werden in 360 ml
Eisessig bei ca. 60° C gelöst.

Dann gibt man 240 ml conc. HCl zu und
kühlt auf 0° C ab. Innerhalb von

8 Stunden werden nun 3,36 g (0,049 Mol)

gut pulverisiertes NaNO_2 zugegeben und danach weitere 1,12 g
(0,016 Mol) NaNO_2 zugefügt. 15 Stunden wird noch bei + 2° C ge-
rührt und dann filtriert. Das Filtrat wird portionsweise inner-
halb von ca. 30 Min. in eine Lösung von 10 g (0,098 Mol) Kalium-
aethylxanthogenat in 375 g Soda und 1,5 l Wasser gegeben. Die
Temperatur wird zwischen 60° und 70° C gehalten. Sie darf 75° C
nicht übersteigen (Explosionsgefahr).

Nach Beendigung der Zugabe läßt man 15 Stunden bei Raumtemperatur
stehen. Beim Abkühlen scheidet sich neben dem Reaktionsprodukt
auch anorganisches Salz ab, das durch Zugabe von Wasser gelöst
wird. Man schüttelt 3 x mit Aether aus, trocknet die hellgelbe
Aetherphase über Na_2SO_4 und erhält nach dem Abdampfen ein gelb-
liches Öl. Dieses wird mit 10 g NaOH in 140 ml Methanol und 10 ml
Wasser in N_2 -Atmosphäre am Rückfluß 2 Stunden gekocht. Die er-
kaltete Mischung wird in 3 l Eiswasser gegossen. Nach Ansäuern
mit HCl scheidet sich das Produkt als gelblicher, grobflockiger
Niederschlag ab. Es wird 2 x unter Einleiten von H_2S aus Eisessig
und Aktivkohle umkristallisiert.

Ausbeute: 6,7 g (51 %)

5: Farblose Kristalle, Schmp. 238°C - 240°C (Eisessig) Lit.: $239,5^{\circ}\text{C}$

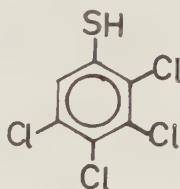
$\text{C}_6\text{HCl}_5\text{S}$ Ber.: H 0.31, Cl 62.77 S 11.35

(282,4) Gef.: H 0.39 Cl 63.02 S 11.52

UV: 290, 228, 206 nm

MS (m/e): 280 (M^+), 245, 210

3. 2,3,4,5-Tetrachlorthiophenol 6



Analog der Herstellung von 5 werden 11,5 g (0,049 Mol) 2 in 360 ml Eisessig gelöst, 240 ml HCl conc. zugesetzt und abgekühlt. Nach Zugabe von insgesamt 4,48 g (0,065 Mol) NaNO_2 wird die Lösung filtriert in die unter 2. beschriebene Kaliumaethylxanthogenatlösung eingebracht. Das rot-braune Öl wird 3 Stunden unter Rückfluß und N_2 -Atmosphäre gekocht. Der rot-gelbe, grobflockige Niederschlag wird 3 x unter Einleiten von H_2S aus Eisessig und Aktivkohle umkristallisiert.

Ausbeute: 9,91 g (71 %)

6: Farblose Nadeln, Schmp. 114°C - 115°C (Eisessig) Lit.: 115°C

$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_4\text{S}$ Ber.: C 29.06, H 0.81, Cl 57.19, S 12.93

(247,9) Gef.: C 29.22 H 0.94 Cl 57.07 S 12.75

UV: 291, 260 (s) 221 nm

MS (m/e): 248 (M^+), 211, 178, 176, 140, 105, 79

4. 2,3,4,6-Tetrachlorthiophenol 7 (67)

Herstellung analog 6 aus 11,5 g (0,049 Mol) 3. Es werden insgesamt 5,6 g (0,081 Mol) NaNO_2 zugegeben. Der rosafarbene Niederschlag wird unter Einleitung von H_2S 3 x aus Eisessig und Aktivkohle umkristallisiert.

Ausbeute: 5,97 g (44 %)

7: Farblose Nadeln, Schmp. $102^\circ - 104^\circ \text{ C}$ (Eisessig) Lit.: 104° C

$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_4\text{S}$	Ber.: C 29.06, H 0.81, Cl 57.19, S 12.93
(247,9)	Gef.: C 28.76, H 1.15, Cl 56.90, S 12.78

UV: 287, 258 (s), 221 nm

MS (m/e) 248 (M^+), 211, 176, 140, 105, 79

5. 2,3,5,6-Tetrachlorthiophenol 8 (67)

Herstellung analog 7 aus 11,5 g (0,049 Mol) 4. Der Niederschlag ist grobkristallin und von rotbrauner Farbe.

Ausbeute: 10,45 g (79 %)

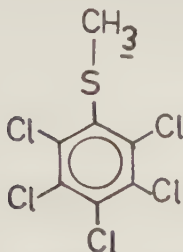
8: Farblose Kristalle, Schmp. $104^\circ - 106^\circ \text{ C}$ (Eisessig) Lit.: 105° C

$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_4\text{S}$	Ber.: C 29.06, H 0.81, Cl 57.19, S 12.93
(247,9)	Gef.: C 29.32, H 0.87, Cl 57.36, S 12.75

UV: 289, 236 (s), 211 nm

MS (m/e) 248 (M^+), 211, 176, 140, 105, 79

6. Methylthiopentachlorbenzol 9 (41) (11)



300 mg (0,001 Mol) 5 werden unter Schwenken mit so viel aetherischem Diazomethan versetzt, bis eine schwache Gelbfärbung bestehen bleibt. Nach mehrstündigem Stehen bei Raumtemperatur

wird zur Entfernung von Verunreinigungen 3 x mit 0,1 N NaOH und 1 x mit H₂O ausgeschüttelt. Nach Trocknen über CaCl₂, Entfernen des Lösungsmittels und Umkristallisieren aus Eisessig und wenig Wasser erhält man derbe, farblose Nadeln.

Ausbeute: 162 mg (53 %)

9: Farblose, derbe Nadeln, Schmp. 93° - 95° C (Eisessig) Lit.: 95° C

C₇H₃Cl₅S Ber.: C 28.36; H 1.02; Cl 59.80; S 10.81

(296,43) Gef.: C 28.46; H 1.15; Cl 59.58; S 10.74

UV: 294, 215,5 nm (keine Veränderung bei Alkalisieren oder Ansäuern)

MS (^{m/e}) 294 (M⁺), 279, 261, 259, 244, 209, 174, 139

GC t_R 372''

7. 1-Methylthio-2,3,4,5-tetrachlorbenzol 10 (41)

Herstellung analog 9 aus 300 mg (0,001 Mol) 6. Das ölige Rohprodukt wird an der Wasserstrahlpumpe destilliert; Siedebereich 159,5° - 161° C bei 14 Torr. Das farblose, sehr bald erstarrende Destillat wird aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 184 mg (60 %)

10: Farblose Nadeln, Schmp. 77,5° - 78,5° C (Methanol) Lit.: 78° C

$C_7H_4Cl_4S$ Ber.: C 32.09; H 1.53; Cl 54.12; S 12.23
(261,98) Gef.: C 32.15; H 1.65; Cl 54.19; S 12.02
UV: 268, 227, 204 nm
MS (m/e) 260 (M^+), 245, 227, 225, 210
GC t_R 283''

8. 1-Methylthio-2,3,4,6-tetrachlorbenzol 11 (41)

Herstellung analog 10 aus 300 mg (0,001 Mol) 7. Reinigung erfolgt durch Destillation; Siedebereich $159^{\circ} - 162^{\circ} C$ bei 14 Torr.

Ausbeute: 175 mg (57 %)

11: Farblose Nadeln, Schmp. $50^{\circ} - 51^{\circ} C$ (Methanol) Lit.: $51^{\circ} C$

$C_7H_4Cl_4S$ Ber.: C 32.09; H 1.53; Cl 54.12; S 12.23
(261,98) Gef.: C 32.18; H 1.45; Cl 55.01; S 12.08
UV: 287, 211 nm (keine Veränderung bei Alkalisieren oder
Ansäuern)

IR: 2910, 1380, 1320, 1310, 1170, 1080, 870, 810, 670 cm^{-1}

MS (m/e) 294 (M^+), 279, 261, 259, 244, 209, 174, 139

GC t_R 178''

9. 1-Methylthio-2,3,5,6-tetrachlorbenzol 12 (41)

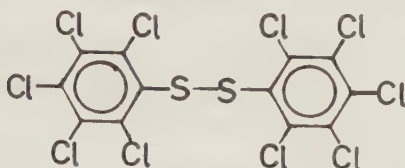
Herstellung analog 9 aus 300 mg (0,001 Mol) 8. Man kristallisiert 2 x aus Methanol um und erhält fein, farblose Kristalle.

Ausbeute: 200 mg (65%)

12: Farblose Kristalle, Schmp. $61,5^{\circ} - 62,5^{\circ} C$ (Methanol) Lit.: $62^{\circ} C$

UV:	290, 236 (s), 211 nm
IR:	2910, 1385, 1320, 1310, 1175, 1060, 870, 810, 675
MS (m/e)	294 (M^+), 279, 261, 259, 244, 209, 174, 139
GC t_R	178''

10. Dekachlordiphenyldisulfid 13 (11)



Eine Lösung von 1 g (0,004 Mol) 5 in 100 ml 25 % NH_3 wird 5 Stunden bei 40° C mit Luft durchperlt. Aus der anfangs klaren Lösung scheiden sich farblose Kristalle ab. Das durch Zentrifugieren erhaltene Rohprodukt wird in Aether aufgenommen und der Aetherextrakt zur Entfernung nicht umgesetzten Thiophenols 3 x mit 1 N NaOH ausgeschüttelt. Über Na_2SO_4 wird der Aether getrocknet und dann abdestilliert. Mit Eisessig kristallisiert man 2 x um.

Ausbeute: 510 mg (51 %)

13: Farblose Kristalle, Schmp. 228° - 230° C (Eisessig) Lit.: 232° C

$C_{12}Cl_{10}S_2$ Ber.: C 25.61, Cl 62.99, S 11.39

(562,79) Gef.: C 25.80, Cl 60.51, S 11.07

UV (n-Hexan): 312, 301, 252, 227 nm

IR: 3100, 1380, 1290, 1230, 1100, 950, 875, 670,
665 cm^{-1}

MS (m/e) 562 (M^+), 335, 229, 278, 271, 246, 212

11. 2,2', 3,3', 4,4', 5,5'-Oktachlordiphenyldisulfid 14

Herstellung analog 13 aus 1 g (0,002 Mol) 6. In 200 ml 25 % Ammoniak wird 6 bei 60° - 70° C gelöst. Nach Abkühlen auf 40° C wird die Lösung 48 Stunden mit Luft durchperlt.

Ausbeute: 525 mg (53 %)

14: Farblose Nadeln, Schmp. 248° - 250° C (Eisessig)

$C_{10}H_2Cl_8S_2$ Ber.: C 29.18; H 0.41; Cl 57.43; S 12.94
(493,9) Gef.: C 29.45; H 0.58; Cl 57.22; S 12.68

UV (n-Hexan): 312,5, 210,5 nm

IR: 3050, 1940, 1555, 1535, 1390, 1340, 1180, 870,
810, 800, 665 cm^{-1}

MS (m/e) 494 (M^+), 301, 229, 277, 271, 246, 212, 210

12. 2,2', 3,3', 4,4', 6,6'-Oktachlordiphenyldisulfid 15

Herstellung analog 14 aus 1 g (0,002 Mol) 7. In 150 ml 25 % Ammoniak wird 7 bei 40° C gelöst. Bei dieser Temperatur wird 48 Stunden mit Luft durchperlt.

Ausbeute: 510 mg (61 %)

15: Farblose Nadeln, Schmp. 168° - 170° C (Eisessig)

$C_{10}H_2Cl_8S_2$ Ber.: C 29.18; H 0.41; Cl 57.43; S 12.94
(493,9) Gef.: C 29.27; H 0.59; Cl 57.12; S 12.68

UV (n-Hexan): 315,5, 212,5 nm

IR: 3050, 1940, 1565, 1535, 1385, 1340, 1180, 1050,
870, 810, 800, 665 cm^{-1}

MS (m/e) 494 (M^+), 295, 281, 246, 212, 210

13. 2,2', 3,3', 5,5', 6,6'-Oktachlordiphenyldisulfid 16

Herstellung analog 15 aus 1 g (0,002 Mol) 8. Es wird ca. 60 Stunden mit Luft durchperlt.

Ausbeute: 425 mg (43 %)

16: Farblose Kristalle, Schmp. 136° - 137° C (Eisessig)

$C_{10}H_2Cl_8S_2$ Ber.: C 29.18, H 0.41, Cl 57.43, S 12.94

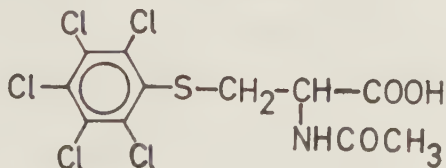
Gef.: C 29.25, H 0.55, Cl 57.14, S 12.86

UV (n-Hexan): 312,5, 210,5 nm

IR: 3100, 3050, 1940, 1740, 1550, 1390, 1340, 1230,
1180, 1080, 870, 800, 705, 665 cm^{-1}

MS (m/e) 494 (M^+), 277, 271, 247, 245, 212, 210

14. N-Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cystein 17 (9) (12)



A. Unter Anwendung der Methode von BEHRING und FACKLER (9) werden

1,95 g (0,015 Mol) α -Acetaminoacrylsäure in 15 ml Dioxan gelöst. Nach Zugabe von 3,85 g (0,015 Mol) 5 und 15 Tropfen Piperidin wird eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Die Lösung färbt sich alsbald rotbraun.

Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der rotbraune Rückstand ca. 2 Stunden mit n-Hexan digeriert, um nicht umgesetztes Thiophenol zu entfernen. Nach Abgießen des n-Hexan wird etwa 12 Stunden über H_2SO_4 getrocknet und dann 3 x mit Äther ausgeschüttelt, um Thiophenol und weitere Verunreinigungen zu entfernen. Der Rückstand wird in ca. 3 l Methanol bei 70°C gelöst, mit Aktivkohle versetzt, 2 x aufgekocht und heiß filtriert. Nach Abkühlen auf 0°C und Zugabe von reichlich Wasser fällt das weißliche Rohprodukt 17 aus. Es wird 2 x aus Methanol umkristallisiert. Nach Einengen im Vakuum fallen farblose Kristallnadeln aus.

Ausbeute 3,78 g (68 %)

17: Farblose Kristallnadeln, Schmp. $229^\circ - 230^\circ \text{C}$ (Methanol) Lit.: 230°C

$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Cl}_5\text{NO}_3\text{S}$ Ber.: C 32.11, H 1.96, Cl 43.08, N 3.40, O 11.66, S 7.79
(411,51) Gef.: C 31.96, H 1.90, Cl 43.02, N 3.51, O 11.76, S 7.68

UV: 295, 216,5 nm

UV (+0,2ml 0,1N NaOH): 295, 216, 204 nm

UV (+0,5ml 0,1N HCl): 290, 217 nm

IR: 3365, 2910/2890, 1720, 1615, 1540, 1420, 1380, 1330,
1260, 1225, 1100, 1045, 1000, 940, 870, 830, 710, 675 cm^{-1}

MS (m/e): 409 (M^+), 350, 298, 264, 248, 214, 212, 87

B. Versuch der Synthese von 17 unter Anwendung der Methode nach FOCELLA, HESLIN und TEITEL:

In eine Lösung von 30 g (0,19 Mol) l-Serin in 900 ml abs. Methanol wird trockenes HCl bei Raumtemperatur eingeleitet.

Das Methanol wird im Vakuum abgezogen, der Rückstand nochmals 2 x mit Methanol und HCl behandelt. Ein farbloser, kristalliner Niederschlag setzt sich ab. Das Gemisch wird gekühlt und mit Aether versetzt, bis kein weiterer Niederschlag mehr ausfällt.

Ausbeute an Serinmethylester-hydrochlorid I 40 g (90 %) (24)

I: Farblose Kristalle, Schmp. 165° - 167° C (Methanol) Lit.: 167° C

MS (m/e): 155 (M^{+}), 120, 118

(155,58)

Analog der Methode von ROTHSTEIN (59) werden 35 g (0,22 Mol) I in 315 ml frisch destilliertem Acetylchlorid suspendiert. Unter kräftigem Rühren werden 60 g (0,29 Mol) PCl_5 im Laufe von etwa 25 Minuten zugegeben. Nach Absaugen wird mit Acetylchlorid und Aethanol gewaschen.

Das Rohprodukt II schmilzt bei 140° - 144° C. Es wird erneut in Methanol, in welches trockenes HCl eingeleitet worden war, gelöst und mit trockenem Aether versetzt. Beim Einengen fallen farblose Kristalle aus.

Ausbeute an 3 - Chlor-2-aminopropionsäure-methylester II: 32,5 g (83 %)

II: Farblose Kristalle, Schmp. $149,5^{\circ}$ - 151° C (Methanol) Lit.: 151° C

MS (m/e): 174 (M^{+})

(174,02)

Analog der Synthese nach ROTHSTEIN (59) werden 11 g (0,06 Mol) II

in 90 ml Benzol suspendiert und mit 9 ml frisch destilliertem

Acetylchlorid ($S = 1,1$) bis zur völligen Lösung unter Rückfluß erhitzt.

Nach etwa 6-stündigem Kochen wird der klaren Lösung n-Pentan zugesetzt,

worauf sich das Reaktionsprodukt 3- Chlor-2-acetaminopropionsäure-methylester III farblos und kristallin abscheidet.

Ausbeute an III 3-Chlor-2-acetamino-propionsäure-methylester- 9,1g (80%)

III: Farblose, drusenförmige Kristalle, Schmp. $102,5^{\circ}$ - 104° C (Pentan)
(59) Lit.: 105° C

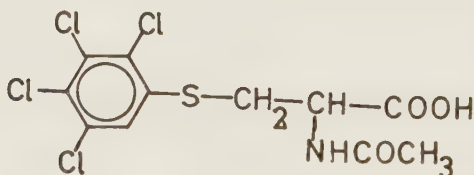
$C_6H_{10}Cl N O_3$ Ber.: C 40.12, H 5.60, N 7.79, Cl 19.74

(179,59) Gef.: C 40.33, H 5.68, N 7.55, Cl 19.69

MS (m/e): 179 (M^+), 144, 142

Diese Methode führte nicht zum gewünschten Syntheseziel (siehe S. 34)

15. N-Acetyl- S -(2,3,4,5-tetrachlorphenyl) cystein 18



Analog der Synthese an 17 werden 1,6 g (0,012 Mol) α -Acetamino-acrylsäure in 24 ml Dioxan gelöst. 3 g (0,012 Mol) 6 und 12 Tropfen Piperidin werden zugegeben und 1 Stunde unter Rückfluß gekocht. Der in Aether nicht gelöste Rückstand wird in 5 l MeOH bei etwa 70° C gelöst, mit Aktivkohle versetzt und siedend heiß filtriert. Es wird 3 x mit Methanol umkristallisiert. Nach Einengen am Vakuum auf etwa 100 ml fallen in der Kälte farblose Nadeln aus.

Ausbeute 4,34 g (76 %)

18: Farblose Nadeln, Schmp. 235° - 236° C (Methanol)

$C_{10}H_9Cl_4N O_3S$ Ber.: C 35.04, H 2.41, Cl 37.61, N 3.72, S 8.50
(377,05) Gef.: C 35.08, H 2.46, Cl 37.50, N 3.86, S 8.22

UV: 2,69, 204,5 nm

UV (+ 0,2 ml 0,1N NaOH): 269, 204,5 nm

UV (+ 0,1 ml 1 N HCl): 267, 207 nm

IR: 3395, 2910/1890, 1735, 1625, 1523, 1445, 1400, 1360,
1320, 1220, 1180, 960, 840, 820, 790, 675 cm^{-1}

MS (m/e): 375 (M^+), 316, 259, 247, 215, 130, 103, 87

16. N -Acetyl-S- (2,3,4,6-tetrachlorphenyl) cystein 19

Analog der Herstellung von 17 und 18 werden 1,6 g (0,012 Mol) a-Acetaminoacrylsäure in 12 ml Dioxan gelöst. 3 g (0,012 Mol) 7 und 15 Tropfen Piperidin werden zugegeben. Der ölige, braune Rückstand wird mit 2 l heißem Methanol aufgenommen. Nach Einengen auf 50 ml fallen bei $-20^{\circ}C$ farblose Kristallnadeln aus.

Ausbeute : 4,45 g (77 %)

19: Farblose Kristallnadeln, Schmp. $194^{\circ} - 196^{\circ}C$ (Methanol)

$C_{11}H_9Cl_4N O_3S$ Ber.: C 35.04, H 2.41, Cl 37.61, N 3.72, S 8.50
(377,05) Gef.: C 35.15, H 2.57, Cl 37.40, N 3.83, S 8.33

UV: 285, 212 nm

UV (+ 0,2 ml 0,1N NaOH): 287, 221 nm

UV (+ 0,1 ml 1n HCl): 221 nm

IR: 3360, 2910/2890, 1735, 1620, 1555, 1445, 1380, 1320,
1220, 1265, 1230, 1110, 1055, 1005, 920, 815, 710,
680, 675 cm^{-1}

MS (m/e): 375 (M^+), 316, 259, 246, 215, 130, 103, 87

17. N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl) cystein 20

Analog der Herstellung 19 werden 1,6 g (0,012 Mol) a-Acetamino-acrylsäure in 15 ml Dioxan gelöst. 3 g (0,012 Mol) 8 und 15 Tropfen Piperidin werden zugesetzt. Der braune, grobkristalline Rückstand wird in 3,5 l Methanol gelöst und gereinigt. In der Kälte fallen nach starkem Einengen farblose Kristallnadeln aus.

Ausbeute: 3,75 g (65 %)

20: Farblose Kristallnadeln, Schmp. 211° - 212° C (Methanol)

$C_{11}H_9Cl_4N O_3S$ Ber.: C 35.04, H 2.41, Cl 37.61, N 3.72, S 8.50

(377,05) Gef.: C 35.19, H 2.53, Cl 37.48, N 3.78, S 8.35

UV: 292, 212 nm

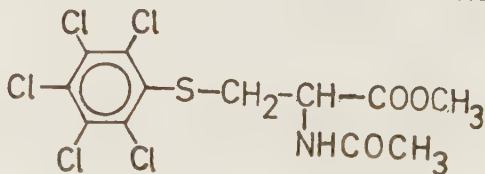
UV (+ 0,2ml 0,1N NaOH): 292, 209,5 nm

UV (+ 0,1ml 1N HCl): 286, 212,5 nm

IR: 3330, 2910/2890, 1715, 1610, 1550, 1425, 1380, 1350,
1310, 1270, 1230, 1170, 1110, 1090, 970, 870, 840,
805, 720, 675, 670 cm^{-1}

MS (m/e): 375 (M^+), 350, 316, 259, 248, 130, 103, 87

18. N- Acetyl-S-(pentachlorphenyl) cysteinmethylester 21



220 mg (0,005 Mol) 17 werden in 10 ml n-Hexan unter Zugabe von 2 ml Methanol gelöst und mit überschüssiger Diazomethan-Lösung in 30 ml n-Hexan behandelt. Man treibt das n-Hexan im Vakuum ab und erhält das gelbliche Rohprodukt 21, welches mit Aether aufgenommen wird. Man wäscht 2 x mit 1N NaOH und 1 x mit Wasser. Die Aetherlösung wird über CaCl_2 getrocknet und abdestilliert. Nach Umkristallisieren aus Methanol erhält man schwach gelbliche Nadeln.

Ausbeute: 190 mg (85 %)

21 Schwach gelbliche Nadeln, Schmp. $150^\circ - 151^\circ \text{C}$ (Methanol)

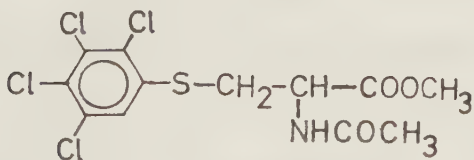
$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Cl}_5\text{N O}_3\text{S}$

(425,55)

MS (m/e): 425 (M^+), 389, 345, 248

GC t_R 504''

19. N-Acetyl-S-(2,3,4,5-tetrachlorphenyl) cysteinmethylester 22



Analog der Herstellung 21 werden 200 mg (0,005 Mol) 18 in 10 ml

Hexan unter Zugabe von 2 ml Methanol gelöst, mit überschüssiger Diazomethanlösung in n-Hexan behandelt und durch Waschen mit MeOH und Wasser gereinigt. Aus Methanol wird 2 x umkristallisiert.

Ausbeute: 186 mg (90 %)

22: Gelbliche Nadeln, Schmp. 148° - 149° C (Methanol)

$C_{12}H_{11}Cl_4N O_3S$

(391,11)

MS (m/e): 389 (M^+), 352, 316, 130

GC t_R 401''

20. N-Acetyl-S-(2,3,4,6-tetrachlorphenyl) cysteinmethylester 23

Analog der Herstellung von 22 werden 200 mg (0,005 Mol) 19 gelöst und mit überschüssiger Diazomethan-Lösung in n-Hexan behandelt.

Man kristallisiert aus Methanol um.

Ausbeute: 180 mg (88 %)

23: Schwach gelbe Nadeln, Schmp. 112° - 113° C (Methanol)

$C_{12}H_{11}Cl_4N O_3S$

(391,11)

MS (m/e) 389 (M^+), 352, 316

GC t_R 246''

21. N-Acetyl-S-(2,3,5,6-tetrachlorphenyl) cysteinmethylester 24

Analog der Herstellung von 23 werden 200 mg (0,005 Mol) 20 gelöst und mit überschüssiger Diazomethan-Lösung behandelt. Man kristallisiert 3 x aus Methanol um.

Ausbeute: 135 mg (65 %)

24: Schwach gelbe Nadeln, Schmp. $176,5^{\circ}$ - 178° C (Methanol)

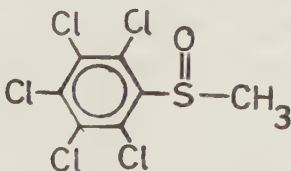
$C_{12}H_{11}Cl_4N O_3S$

(391,11)

MS (m/e): 389 (M^+), 352, 316, 130

GC t_R 246''

22. Pentachlorphenyl-methyl-sulfoxid 25 (73)



Zu 3 g (0,006 Mol) 9, gelöst in 50 ml Eisessig werden 0,76 g (0,006 Mol) 30 % H_2O_2 gegeben und die klare, farblose Lösung

60 Minuten zum Rückfluß erhitzt. Dann wird die essigsäure Lösung reichlich mit Wasser versetzt und der sich abscheidende farblose Niederschlag wird abgefiltert und mit Wasser gewaschen. Zur Reinigung wird das Rohprodukt 25 in Aceton gelöst und auf PSC KG-Platten mit Methanol als Laufmittel und in N_2 -Atmosphäre chromatographiert.

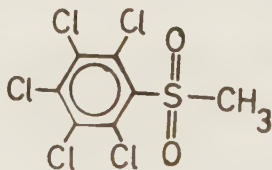
Die Zone vom R_f -Wert 0,42 wird mit Methanol eluiert. Aus Methanol umkristallisiert erhält man farblose, blättchenförmige Kristalle.

Ausbeute: 162 g (77 %)

25: Farblose, blättchenförmige Kristalle, Schmp. $164^{\circ}C$ (Methanol)
Lit.: $164^{\circ}C$

$C_7H_3Cl_5O S$ Ber.: C 26.91, H 0.97, Cl 56.78, O 5.12, S 10.26
(312,43) Gef.: C 26.92, H 0.97, Cl 56.19, O 5.13, S 10.02
UV: 309, 297 (s), 278, 217,5 nm
IR: 3000, 2910, 1540, 1430, 1410, 1340, 1310, 1230, 1205,
1160, 1100, 1080, 960, 860, 695, 690 cm^{-1}
MS (m/e): 311 (M^+), 294, 279, 261, 209, 174
GC t_R 440''

23. Pentachlorphenyl-methyl-sulfon 26 (73)



Zu einer Lösung von 3 g (0,01 Mol) 9 in 100 ml Eisessig werden 3,53 g (0,03) 30 % H_2O_2 gegeben. Nach einer Stunde Kochen unter Rückfluß erhält man bei Verdünnen mit reichlich Wasser das Rohprodukt 26, welches bei DC-Überprüfung noch Spuren von 25 enthält. Zur Reinigung wird auf PSC KG-Fertigplatten mit Chloroform als Laufmittel chromatographiert. Die Zone vom R_f -Wert 0,61 wird mit Methanol eluiert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand mit Eisessig aufgenommen und umkristallisiert. Der grobkristalline Niederschlag wird auf eine Nutsche gespült und mit kaltem Eisessig und Wasser gewaschen. Dann wird erneut aus Eisessig umkristallisiert. Nach dem Einengen fallen farblose Kristalle aus.

Ausbeute: 2,42 g (74 %)

26: Farblose Kristalle, Schmp. $191,5^\circ - 193^\circ \text{ C}$ (Eisessig) Lit.: 193° C

$\text{C}_7\text{H}_3\text{Cl}_5\text{O}_2\text{S}$ Ber.: Cl 53.97, O 9.74, S 9.76

(328,43) Gef.: Cl 53.57, O 9.78, S 9.64

UV: 313, 304, 218 nm

IR: 3305, 2930, 1520, 1500, 1420, 2348, 1335, 1220,
1160, 1100, 970, 870, 795, 765, 760 cm^{-1}

MS (m/e): 326, 311, 263

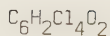
GC t_R 550''

24. Tetrachlorbrenzkatechin 27 (81)

3 g (0,01 Mol) o-Chloranil werden in 75 ml Diäthylenglykol gelöst und mit 0,24 g (0,02 Mol) Hydraziniumhydroxid versetzt. Man erwärmt eine Stunde im siedenden Wasserbad. Nach Einengen des Lösungsmittels im Vakuum fällt das gelbliche Rohprodukt 27 aus, welches aus Aethanol umkristallisiert wird.

Ausbeute 1,27 g (42 %)

27: Schwach gelbliche Nadeln, Schmp. 192° - 193° C (Aethanol)
Lit.: 195° C



(247,94)

UV: 289,5 nm

UV (+ 0,2 ml 1 N NaOH) 309,5, 228,5 nm

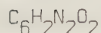
MS (m/e): 245 (M^+), 213, 178, 143, 108

25. Tetrachlorresorcin 28 (25) (26)

3 g (0,02 Mol) Resorcin werden in 50 ml Eisessig gelöst. Nach Zugabe von 5 g Eis wird unter Kühlen im Eisbad und Rühren innerhalb 1 Stunde 3,74 g KNO_2 zugegeben. Nach weiteren 15 Minuten im Eisbad setzt man reichlich Eiswasser zu und zentrifugiert das ausgefallene gelbe Rohprodukt IV ab und wäscht mit kaltem Eisessig nach; anschließend kristallisiert man aus Aethanol um.

Ausbeute an 2,4 Dinitrosoresorcin IV: 3,32 g (72 %)

IV: Gelbe Prismen, Schmp. 164° - 165° C (Aethanol) Lit.: 165° C



(170,12)

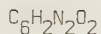
MS (m/e): 169 (M^+), 139, 108

In 13,2 g 50 % HNO_3 wird unter Kühlen im Eisbad eine Suspension von 3 g (0,02 Mol) IV zugetropft. Nach 15 Minuten wird die Salpetersäure von V abgegossen, das Rohprodukt V auf eine Nutsche gespült und mehrmals mit kaltem Wasser und kaltem Aethanol gewaschen. Dann wird aus Aethanol mit Aktivkohle umkristallisiert.

Ausbeute an 2,4 Dinitrosoresorcin V: 1,53 g (48 %)

V: Gelbe, derbe Kristallnadeln, Schmp. 104° - 107° C (Aethanol)

Lit.: 106° C



(202,12)

MS (m/e): 201 (M^+), 293, 263, 147

Eine Lösung von 1,2 (0,0016 Mol) V in 30 ml Eisessig wird unter Einleiten von trockenem Cl_2 2 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag zentrifugiert und in 50 % Aethanol gelöst. Die gelbe Lösung wird auf PSC KG-Fertigplatten aufgetragen und mit Chloroform als Laufmittel chromatographiert. Die Zone vom R_f -Wert 0,82 wird mit Methanol eluiert und zur Reinigung nochmals in gleicher Weise chromatographiert. Beim Einengen des methanolischen Eluats fallen farblose Kristalle aus.

Ausbeute an 28 130 mg (8 %)

28: Farblose Nadeln, Schmp. $139^\circ - 141^\circ \text{C}$ (Methanol) Lit.: 142°C



(247,93)

UV: 286, 282 (s) nm

UV (+ 0,2 ml 1 N NaOH) 314,5, 223 nm

MS (m/e): 245 (M^+), 235, 216, 200, 165, 130, 95

26. Tetrachlorhydrochinon 29 (81)

In eine Lösung von 5 g (0,02 Mol) p-Chloranil, die am siedenden Wasserbad erwärmt wird, werden 0,44 g (0,04 Mol) Hydraziniumhydroxid innerhalb einer Stunde zugetropft.

Nach Beendigung des Zutropfens kocht man eine Stunde unter Rückfluß und gibt danach reichlich Wasser zu. Das weiße Rohprodukt 29 wird auf eine Nutsche gespült und mehrmals mit Wasser und eiskaltem Methanol gewaschen; anschließend wird aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 2,63 g (52 %)

29: Farblose Kristalle, Schmp. 232°C (Methanol) Lit.: 232°C

$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_4\text{O}_2$
(247,93)

UV: 281 nm

UV (+ 0,2 ml 1N NaOH) 312, 228 nm

MS (m/e): 245 (M^+), 200, 165, 130, 95

Literaturverzeichnis

- 1 AHLBORG, U.G., LINDGREN, J.E., MERCIER, M.
Metabolism of Pentachlorophenol
Arch. Toxicol. 32, 271 - 274 (1974)
- 2 ALAM, M.
Analytical Methods for Traces of Hexachlorobenzene in Formulations
of other Pestizides
Pestic.Sci. 8, 167 - 171 (1977)
- 3 AVRAHAMI, M., STEELE, R.T.
Hexachlorobenzene
I. Accumulation and Elimination of HCB in Speep after Oral Dosing
II. Residues in Laying Pullets Fed HCB in their Diet and the
Effects on Egg Production, Egg Hatchability, and on Chickens.
III. The Effects of Feeding HCB to Growing Chickens.
New Zealand J. Agric. Res. 15, 480 - 488/489 - 494/ (1972)
- 4 ACKER, L., SCHULTE, E.
Organochlorine Compounds in the Human Body.
Umschau 71, 848 - 851 (1971)
- 5 ARNOLD, R.
Literaturübersicht und -auswertung zum Problem Hexachlorbenzol
(HCB)
Bayer. Staatsm. f. Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1975)

- 6 BAUMANN, E., PREUSSE, C.
Über Bromphenyl-Mercaptursäure
Ber. dtsch. chem. Ges. 12, 806 - 810 (1879)
- 7 BEETS, J.J., JAMES, S.P., THORPE, W.V.
The Metabolism of Pentachloronitrobenzene and 2:3:4:6 Tetrachloro-
nitrobenzene and the Formation of Mercapturic Acid in the Rabbit
Biochem. J. 61, 611 - 617 (1955)
- 8 BINKLEY, F.
Formation of Mercapturic Acids by Cystinuric and Normal Dogs
J. Biol. Chemistry 178, 811 - 820 (1949)
- 9 BEHRINGER, H., FACKLER, D.
Eine einfache Synthese der racemischen Mercaptursäuren
Liebigs Ann. Chem. 564, 73 - 78 (1949)
- 10 BERCKMANS, E.S., HOLLEMAN, A.F.
Tetrachloronitrobenzènes, les Tetrachloronitrobenzènes; leur
Reaction avec le Methylate de Sodium.
Recueil Trav. chim. Pays-Bas 44, 851 - 857 (1925)
- 11 BORDWELL, J., ANDERSEN, P.
The Synthesis of Thiophenols.
J. Americ. chem. Soc. 75, 6020 - 6024 (1953)

- 12 BRAY, H.G., HYBS, Z., JAMES, S.P., THORPE, W.V.
The Formation of Mercapturic Acid from 2:3:5:6 Tetrachloronitrobenzene in the Rabbit
Biochem. J. 52, XVIII (1952)
- 13 BRAY, H.G., HYBS, Z., JAMES, S.P., THORPE, W.V.
The Metabolism of 2:3:5:6 and 2:3:4:5 Tetrachloronitrobenzenes in the Rabbit and the Reduction of Aromatic Nitro Compounds in the Intestine
Biochem. J. 53, 266 - 273 (1953)
- 14 BRAY, H.G., JAMES, S.P., THORPE, W.V.
The Metabolism of the Monochloronitrobenzenes in the Rabbit
Biochem. J. 64, 38 - 44 (1956)
- 15 BURNS, J.E., MILLER, F.M., GOMES, E.D., ALBERT, R.A.
Hexachlorobenzene Exposure from Contaminated DCPA in Vegetable Spraymen.
Arch. Environm. Hlth. 29, 192 - 194 (1974)
- 16 BURNS, J.E., MILLER, F.M.
Hexachlorobenzene Contamination: 119 Effects in Louisiana Population
Arch. Environm. Hlth. 30, 44 - 49 (1975)
- 17 CAM, D., NIGOGOSYAN, G.
Acquired Porphyria cutanea tarda due to Hexachlorobenzene
J. Amer. med. Assoc. 183, 88 - 91 (1963)

- 18 CARLSON, C.P., TARDIFF, R.G.
Alteration of Xenobiotic Metabolism by Chlorinated Benzenes
1, No. 189 (1976)
- 19 Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG
Methodensammlung zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln
Verlag Chemie Weinheim/BGstr. (1972)
- 20 DYBING, E., AUNE, T.
Hexachlorobenzene Induction of 2,3, Diaminoanisole Mutagenicity
in vitro
Acta Pharmacol. Toxicol. 40, 575 - 583 (1977)
- 21 ENGST, R., MACHOLZ, R.M., KUJAWA, M.
Zur Kontamination der Umwelt mit Hexachlorbenzol.
Nahrung 21, 231 - 234 (1977)
- 22 Environmental Protection Agency (EPA)
EPA-Report 72
Industrial Pollution of the Lower Mississippi River in Louisiana April 72
American Ministry of Health
- 23 FISCHER, E., JACOBS, W.A.,
Herstellung von L-Serin-methylester
Ber. dtsh. chem. Ges. 39, 2949 (1906)

- 24 FISCHER, E., RASKE, K.
Verwandlung des l- Serins in d- Alanin
Ber. dtsh. chem. Ges. 40, 3717 - 3724 (1907)
- 25 FRIES, K., HARTMANN, W.
Synthese des Tetrachlorresorzin über ein Aminoanthrachinon
Ber. dtsh. chem. Ges. 53, 2943 - 2946 (1920)
- 26 FRITZ, K., GOERZ, G., KRIEG, TH.
Herstellung des Tetrabromresorzin
Ber. dtsh. chem. Ges. 57, 1215 - 1217 (1924)
- 27 GRANT, D.L., IVERSON, F., HATINA, G.V., VILLENEUVE, D.C.
Effects of Hexachlorobenzene on Liver Porphyrin Levels
and Microsomal Enzymes in the Rat
Environm. Physiol. Biochem. 4, 159 - 165 (1974)
- 28 GRANT, D.K., SHIELDS, J. B., VILLENEUVE, D.C.
Chemical (HCB) Porphyria: Effect of Removal of Sex Organs in the Rat
Bull. Environm. Contamin. Toxicol. 14, 422 - 425 (1975)
- 29 HABIG, W.H., PABST, M.J., JAKOBY, W.B.
Glutathione - S- Transferases
The First Step in Mercapturic Acid Formation
J. Biol. Chemistry 249, 7130 - 7139 (1974)

- 30 HABIG, W.H., PABST, M.J., JAKOBY, W.B.
Glutathione -S -Transferase AA from Rat Liver
Arch. Biochem. Biophys. 175, 710 - 716 (1976)
- 31 HARTKE, K., BÖHME, H.
Deutsches Arzneibuch 7. Ausgabe mit Kommentar (1978)
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1968)
- 32 HÖRHAMMER, L., LIST, P.H., ROTH, H.J., SCHMID, W.
Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis
Springer Verlag - Berlin-Heidelberg-New York 7 Bände (ab 1967)
- 33 IATROPOULOS, M.V., HOBSON, W., KNAUF, V., ADAMAS, H.P.
Morphological Effects of Hexachlorobenzene Toxicity in Female
Rhesus Monkeys
Toxicol. Appl. Pharmacol. 37, 433 - 444 (1976)
- 34 JAFFE, M.
Über die nach Einführung von Brombenzol und Chlorbenzol im
Organismus entstehenden schwefelhaltigen Säuren.
Ber. dtsh. chem. Ges. 12, 1092 - 1098 (1879)
- 35 JAMES, S.P., PHEASANT, W.E.
Glutathione Conjugation and Mercapturic Acid Formation
in the Developing Rat, in vivo and in vitro.
Xenobiotica 8, 207 - 217 (1978)

- 36 JANSSON, B., BERGMAN, A.
Sulfur-containing Derivatives of Hexachlorobenzene (HCB)
Metabolites in the Rat.
Chemosphere 7, 257 - 268 (1978)
- 37 JENNER, P., TESTA, B.
Novel Pathways in Drug Metabolism
Xenobiotica 8, 1 - 25 (1978)
- 38 JONDORF, W.R., PARKE, D.V., WILLIAMS, R.T.
Studies in Detoxication
66. The Metabolism of Halogenobenzenes 1:2:3, 1:2:4 and
1:3:5 Trichlorbenzenes
Biochem. J. 59, 325 - 329 (1955)
- 39 KLIMMER, O.R.
Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel.
Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen
Hundt - Verlag Hattingen 2. Auflage (1971)
- 40 KOSS, G., KORANSKY, W.
Toxicology of Hexachlorobenzene I. Pharmacokinetics
Arch. Toxicol. 34, 203 - 212 (1975)
- 41 KOSS, G., KORANSKY, W., STEINBACH, K.
Studies on the Toxicology of Hexachlorobenzene
II. Identification and Determination of Metabolites
Arch. Toxicol. 35, 107 - 114 (1976)

- 42 KOSS, G., SEUBERT, S., SEUBERT, A., KORANSKY, W., IPPEN, H.
Studies on the Toxicology of Hexachlorobenzene
III. Observations in a Long-Term Experiment
Arch. Toxicol. 40, 285 - 294 (1978)
- 43 KOSZO, F., SIKLOSI, Cs., SIMON, N.
Hexachlorobenzene Porphyrin and Hexachlorobenzene Catabolism
in Rats
Biochem. Biophys. Research Comm. 80, 781 - 788 (1978)
- 44 KUIPER GOODMAN, T., GRANT, D.L., MOODIE, C.A.
Subacute Toxicity of Hexachlorobenzene in the Rat
Toxicol. Appl. Pharmacol. 33, No. 87 (1975)
- 45 LISSNER, R., GOERZ, C., EICHENAUER, M.G., IPPEN, H.
Hexachlorobenzene Induced Porphyrin in Rats.
Relationship between Porphyrin Excretion and Induction of Drug
Metabolizing Liver Enzymes
Biochem. Pharmacol. 24, 1729 - 1731 (1975)
- 46 LUI, H., SWEENEY, D.
Hepatic Metabolism of Hexachlorobenzene in Rats
FEBS Letters 51, 225 - 226 (1975)
- 47 MEHENDALE, H.M., FIELDS, M., MATTHEWS, H.B.
Metabolism and Effects of Hexachlorobenzene on Hepatic Microsomal
Enzymes in the Rat
J. Agric. Food Chem. 23, 261 - 265 (1975)

- 48 METCALF, R.L., KAPOOR, I.P., LU, P., SCHUTH, C.K., SHERMAN, P.
Model Ecosystem Studies of the Environmental Fate of Six
Organochlorine Pesticides
Environ. Hlth Perspect. Exp. Issue No. 4, 35 - 44 (1973)
- 49 PARKE, D.V., WILLIAMS, R.T.
The Metabolism of Benzene
a) The Determination of Phenylmercapturic Acid in Urine.
b) Mercapturic Acid Excretion by Rabbits receiving Benzene
Biochem. J. 48, 624 - 628 (1951)
- 50 PARKE, D.V.
Studies in Detoxication
64. The Syntheses of the isomeric Dichlorophenylmercapturic Acids
Biochem. J. 59, 422 - 426 (1955)
- 51 PIRIE, N.W., HELE, Th. Sh.
Studies on the Sulphur Metabolism of the Dog
XII. The Preparation and Metabolism of d-Acetylcysteine
Biochem. J.
27, 1716 - 1718 (1933)
- 52 PLIMMER, J.R., KLINGEBIEL, U.I.
Photolysis of Hexachlorobenzene
J. Agric. Food Chem. 88, 721 - 723 (1976)

- 53 RENNER, G., SCHUSTER, K.P.
Studies on the Metabolism of Hexachlorobenzene
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. Suppl. II
V 297 R5/17 (1977)
- 54 RENNER, G., SCHUSTER, K.P.
2,4,5 Trichlorphenol, a New Urinary Metabolite of Hexachlorobenzene
Toxicol. Appl. Pharmacol. 39, 355 - 356 (1977)
- 55 RENNER, G., RICHTER, E., SCHUSTER, K.P.
N-Acetyl-S-(pentachlorophenyl)cysteine, a New Urinary Metabolite of
Hexachlorobenzene.
Chemosphere 7, 663 - 668 (1978)
- 56 RENNER, G., RICHTER, E., SCHUSTER, K.P.
Synthesis of Hexachlorobenzene Metabolites
Chemosphere 7, 669 - 674 (1978)
- 57 RENNER, G., SCHUSTER, K.P., KUHNEN, H.B., STACHEL, H.-D.
Isolierung von Stoffwechselprodukten der Pestizide Hexachlorbenzol
und Pentachlornitrobenzol aus Harn und Faeces von Ratten und Kaninchen.
Chemosphere 7, 943 - 947 (1978)
- 58 ROHLEDER, K.P., ROHR, K., DAENICKE, R.
Untersuchungen zum Übergang von Hexachlorbenzol (HCB) in Kuhmilch
Milchwissenschaft 31, 416 - 419 (1976)

- 59 ROTHSTEIN, E.
Experiments in the Synthesis of Derivatives of α -Aminoacrylic
Acid from Serine and N-Substituted Serines
J. chem. Soc. [London] 1968 - 1972 (1949)
- 60 ROZMAN, K., MUELLER, W., IATROPOULOS, M. et al.
Ausscheidung, Körperverteilung und Metabolisierung von Hexachlor-
benzol nach oraler Einzeldosis in Ratten und Rhesusaffen
Chemosphere 4, 289 - 298 (1975)
- 61 ROZMAN, K., MUELLER, W., COULSTON, F., KORTE, F.
Long-Term Feeding Study of Hexachlorobenzene in Rhesus Monkeys
Chemosphere 6, 81 - 84 (1977)
- 62 SIMON, N., SIKLOSI, CS.
Beeinflussung des Porphyrinstoffwechsels durch Umweltfaktoren
Berufsdermatosen 22, 237 - 239 (1974)
- 63 STEINWANDTER, H.
Zum Lindanmetabolismus an Pflanzen.
I. Bildung von Hexachlorbenzol
Chemosphere 5, 119 - 125 (1976)

- 64 STEKOL, J.A.
The Determination of p- Bromophenylmercapturic Acid in the Urine
of the Dog
J. Biol. Chemistry 113, 279 - 288 (1936)
- 65 STONARD, M.D.
Mixed Type Hepatic Microsomal Enzyme Induction by Hexachlorobenzene
Biochem. Pharmacol 24, 1959 - 1963 (1975)
- 66 STONARD, M.D., GREIG, J.B.
Differenz Patterns of Hepatic Microsomal Enzyme Activity Produced
by Administration of Pure Hexachlorobiphenyl Isomers and
Hexachlorobenzene
Chem.-Biol. Interactions 15, 365 - 379 (1976)
- 67 TADROS, W., SAAD, B.
Preparation of Pentachlorothiophenol and Some Other Sulphur Compounds
J. chem. Soc. [London] 1155 - 1156 (1954)
- 68 TURNER, J.C., GREEN, R.S.
Effect of Hexachlorobenzene on Microsomal Enzyme Systems
Biochem. Pharmacol. 23, 2387 - 2390 (1974)
- 69 VAINIO, H., SAVOLAINEN, H., KILPIKARI, I.
Urinary Thioether of Employees of a Chemical Plant
Brit. J. ind. Med. 35, 232 - 234 (1978)

- 70 WALLNÖFER, P., KÖNIGER, M.
Modellversuche über die Aufnahme von Hexachlorbenzol und polychlorierten Biphenylen durch Kulturpflanzen aus verschiedenen Substraten.
Nachrbl. dtsh. Pflanzenschutzdienstes 26, 54 - 57 (1974)
- 71 WEGLER, R.
Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel
Band II Fungi und Fungicide 4 - 156 (1970)
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1970)
- 72 WAKEFIELD, C.J., WARING, D.R.
Oxidative Dimerization of a Thiol and Certain Thioethers During Thin-Layer Chromatography, Observed by Mass Spectrometry
J. chrom. Sci. 15, 82 (1977)
- 73 WALLACE, R.J.
Reactions of Thiols with Sulfoxides.
I. Scope of the Reaction and Synthetic Applications
J. Amer. chem. Soc. 86, 2018 - 2021 (1964)
- 74 WEST, H.D., MATHURA, Gh.R., BLACK, L.A.
Laboratory Synthesis of p-Chlorophenyl-L-Cysteine and its Acetylation by the Rat
J. Biol. Chemistry 193, 133 - 135 (1951)
- 75 WILLIAMS, R.T.
Detoxication Mechanisms
The Metabolism and Detoxication of Drugs, Toxic Substances and Other Organic Compounds
Chapman and Hall, London, II. Edition (1959)

- 76 WICK, M., BAYERL, J., RICHTER, E., RENNER, G.
Influence of Sex on the Biotransformation of Hexachlorobenzene
(HCB) in Rats
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol.
Suppl. to Vol. 307 77 (1979)
- 77 WOOD, J.L., van MIDDLESWORTH, L.
Preparation of Cysteine from Radioactive Sulfur
J. Biol. Chemistry 179, 529 - 533 (1949)
- 78 YANG, R.S.H., COULSTON, F., GOLBERG, L.
Chromatographic Methods for the Analysis of Hexachlorbenzene
and Possible Metabolites in Monkey Fecal Samples
J. Ass. Off. Anal. Chemists 58, 1197 - 1201 (1975)
- 79 ZBARSKY, S.H., YOUNG, L.
I. The Synthesis of Phenyl-l-cysteine and l-Phenylmercapturic
Acid.
II. The Formation of l-Phenylmercapturic Acid from Phenyl-l-cy-
steine in Vivo
J. Biol. Chemistry 151, 211-217/217-219 (1943)
- 80 ZEMAN, A., WOLFRAM, G., ZÖLLNER, N.
Über das Vorkommen von Hexachlorbenzol im menschlichen Serum.
Naturwissenschaften 58, 276 - 277 (1974)
- 81 ZUSHIKAWA, H., YAMAZAKI, I., IYANAGI, T.
Synthesis of Chlorinated Diphenols by Reduction
Biochem. Biophys. Acta 67, 522 - 523 (1963)

Lebenslauf

Klaus Peter Schuster	geb. am 29. April 1943 in Erlangen als Sohn des Apothekers Heinrich Schuster und seiner Ehefrau Anna, geb. Meindl
Schulen:	1949 - 1953 Volksschule in Weilheim i. OB. 1953 - 1962 human. Gymnasium Weilheim
Reifeprüfung:	18. Juli 1962 human. Gymnasium Weilheim
Studiengang:	
I. Medizin	1962 - 1968
Staatsexamen	6. August 1968
Approbation als Arzt	4. November 1971 BayStaMinInn München nach Ableistung der MA-Zeit am Städt. Krankenhaus Penzberg, Landkreis Weilheim
Promotion	5. Oktober 1969 Universität München Thema der Arbeit: Wirkungsstärke und Wirkungsverluste spasmolytisch wirk- samer Arzneidroge, galenischer Zubereitungen und Arzneifertigwaren. 1. Berichterstatter: Prof.Dr.W. Felix 2. Berichterstatter: Prof.Dr.M. Kiese
II. Pharmazie	1968 - 1971
Praktikantenzeit	1962 - 1964 in der Stadt-Apotheke Weilheim
Vorexamen	23. September 1964
Staatsexamen	17. Juli 1971
Approbation als Apotheker	23. November 1971 BayStaMinInn München
Grundwehrdienst	1. November 1971 - 31. Januar 1973 an der Fernmeldeschule des Heeres in Feldafing. 1971 Stabsarzt, 1977 Oberstabsarzt d.R. gleichzeitig Studium der BWL in München

Tätigkeitsbeginn
als wissenschaftlicher Mit-
arbeiter am Pharmakologischen
Institut der Universität
München

1. März 1973

Vorliegende Arbeit wurde ausgeführt vom November 1975 bis
Oktober 1978 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. rer. nat.
G. Renner am Pharmakologischen Institut der Universität
München. Direktor Prof. Dr. M. Kiese

